



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS EM
SOLUÇÃO DE UM COMPLEXO DE Cu^{II} COM O LIGANTE
 $\text{tacn-}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff}$: POTENCIAL BIOMIMÉTICO PARA
NUCLEASES/PROTEASES**

VICENTE RODRIGUES DE ALMEIDA

ASSINATURA

Vicente Rodrigues de Almeida

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS EM
SOLUÇÃO DE UM COMPLEXO DE Cu^{II} COM O LIGANTE
tacn-ⁱPr₂mff: POTENCIAL BIOMIMÉTICO PARA
NUCLEASES/PROTEASES.**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves

Co-Orientador: M.Sc Fernando Roberto Xavier

Florianópolis
11/2009

Vicente Rodrigues de Almeida

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS EM
SOLUÇÃO DE UM COMPLEXO DE Cu^{II} COM O LIGANTE
tacn-ⁱPr₂mff: POTENCIAL BIOMIMÉTICO PARA
NUCLEASES/PROTEASES.**

Profa. Dra. Inês Maria Costa Brighente
Coordenadora de Estágios do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ademir Neves
Orientador

Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi

Prof. Dr. José Roberto Bertolino

Florianópolis
novembro/2009

Agradecimentos

À minha família, meus pais Léo e Carmen pelo amor e dedicação, meus irmãos Nicolás e Noel pela parceria em toda uma jornada, meus avós Lucho, Hilda e Elza por todo o sentimento e afeto.

À Maressa, por ter me ensinado valores verdadeiros e pelo companheirismo durante esta etapa. Também a sua família, Dóris, Mayra, Dorilde, Sergio e Dione, pelo apoio e amizade.

À meus amigos, Tiago, Fábio, Everton, Deonildo, Carlos, Alex entre outros que fizeram da química uma experiência descontraída e agradável.

Ao prof. Adailton por ter aberto as portas a este novo mundo.

Ao prof. Ademir pela grande oportunidade.

Ao Fernando pela descontração e pelo que aprendi durante este período de trabalho.

À todos os colegas de laboratório pelos ensinamentos, pela compreensão e os momentos divertidos.

À equipe de futsal feminino por me suportarem duas vezes por semana.

À UFSC, um ambiente onde tudo é possível.

Ao CNPq pelo incentivo.

Sumário

Agradecimentos	4
Sumário	5
Lista de Figuras	7
Lista de Tabelas	9
Resumo	10
1. Introdução	11
1.1 Enzimas e Química Bioinorgânica	11
1.2 Proteínas e Ácidos Nucléicos	12
1.3 Metaloenzimas hidrolíticas e Promiscuidade catalítica	15
1.4 Modelagem biomimética de metalohidrolases	16
2. Objetivos	18
2.1 Objetivo Principal	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3. Parte Experimental	19
3.1 Materiais	19
3.2 Métodos e Instrumentação	19
3.2.1 Difractometria de Raios-X	19
3.2.2 Eletroquímica	19
3.2.3 Espectroscopia eletrônica UV-Vis	20
3.2.4 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho – IV	20
3.2.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio RMN ^1H e ^{13}C	20
3.3 Síntese dos precursores	21
3.3.1 Síntese do 1,2-bis(p-toluenosulfonil)etilenoglicol – eg-ts ₂	21
3.3.2 Síntese do N,N',N''-tris(p-toluenosulfonil)-dietilenotriamina – deta-ts ₃	22
3.3.3 Síntese do 1,4,7-tris-(p-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano – tacn-ts ₃	24
3.3.4 Síntese do 1-(p-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano – tacn-ts	26
3.3.5 Síntese do 1,4-diisopropil-7-(p-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano – tacn ⁱ Pr ₂ -ts	28
3.3.6 Síntese do 1,4-diisopropil-1,4,7-triazaciclononano – tacn ⁱ pr ₂	30
3.3.7 Síntese do 2-clorometil-4-metil-6-formil-fenol – cmff	31

3.4 Síntese do ligante 2-[(4,7-diisopropil-1,4,7-triazaciclononan-1-il)metil]-6-(formil)-4-metilfenol – tacn ^I Pr ₂ mff	35
3.5 Síntese do complexo [Cu ₂ (tacn ^I Pr ₂ mff)Cl ₃] – 1	37
4. Resultados e Discussão.....	39
4.1 Caracterização do ligante.....	39
4.1.1 Espectroscopia vibracional no Infravermelho – IV.....	39
4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio RMN ¹ H e ¹³ C.....	42
4.2 Caracterização do Complexo	43
4.2.1. Espectroscopia vibracional no Infravermelho	43
4.2.2 Estrutura Cristalina do Complexo [Cu ₂ (tacn ^I Pr ₂ mff)Cl ₃] – 1	44
4.2.3 Eletroquímica	47
4.2.4 Espectroscopia eletrônica UV-Vis	50
4.3 Proposição de equilíbrio de espécies em solução.....	51
5. Conclusões	52
6. Perspectivas.....	53
7. Referências Bibliográficas.....	54

Lista de Figuras

Figura 1 – Reação genérica de formação de um dipeptídeo.....	13
Figura 2 – Estruturas químicas das unidades fosfodiéster do DNA e RNA.....	14
Figura 3 – Espectro vibracional IV do eg-ts ₂ em pastilha de KBr.	22
Figura 4 – Espectro RMN ¹ H do eg-ts ₂ em CDCl ₃	22
Figura 5 – Espectro vibracional IV do deta-ts ₃ em pastilha de KBr.	23
Figura 6 – Espectro RMN ¹ H do deta-ts ₃ em CDCl ₃	24
Figura 7 – Espectro vibracional IV do tacn-ts ₃ em pastilha de KBr.	25
Figura 8 – Espectro RMN ¹ H do tacn-ts ₃ em CDCl ₃	25
Figura 9 – Espectro vibracional IV do tacn-ts em pastilha de KBr.....	27
Figura 10 – Espectro RMN ¹ H do tacn-ts em CDCl ₃	27
Figura 11 – Espectro vibracional IV do tacn ⁱ Pr ₂ -ts em pastilha de KBr.	29
Figura 12 – Espectro RMN ¹ H do tacn ⁱ Pr ₂ -ts em CDCl ₃	29
Figura 13 – Espectro vibracional IV do tacn ⁱ Pr ₂ em pastilha de KBr.	30
Figura 14 – Espectro RMN ¹ H do tacn ⁱ Pr ₂ em CDCl ₃	31
Figura 15 – Espectro vibracional IV do Hmb em pastilha de KBr.....	32
Figura 16 – Espectro RMN ¹ H do Hmb em CDCl ₃	33
Figura 17 – Espectro vibracional IV do cmff em pastilha de KBr.....	34
Figura 18 – Espectro RMN ¹ H do cmff em CDCl ₃	34
Figura 19 – Espectro vibracional IV do tacn ⁱ Pr ₂ mff em pastilha de KBr.	36
Figura 20 – Espectro RMN ¹ H do tacn ⁱ Pr ₂ mff em CDCl ₃	36
Figura 21 – Espectro RMN ¹³ C do tacn ⁱ Pr ₂ mff em CDCl ₃	37
Figura 22 – Espectro vibracional IV do complexo 1 em pastilha de KBr.	38
Figura 23 – Espectro na região do infravermelho (esquerda) do ligante livre (A) e complexo 1 (B). A direita expansão da região de menores frequências (1900 a 500 cm ⁻¹)	44
Figura 24 – Estrutura cristalina do complexo [Cu ₂ (tacn ⁱ Pr ₂ mff)Cl ₃] (1).....	45
Figura 25 – Voltametria cíclica de 1 em acetonitrila. Eletrodos: carbono vítreo (trabalho), Ag/Ag ⁺ (referência) e platina (auxiliar). Eletrólito suporte: TBAPF ₆ 0,1 mol.L ⁻¹ . Padrão interno: ferroceno.....	48
Figura 26 – Voltametria cíclica em solução aquosa e valores de pH selecionados. Condições: [1] = 1 x 10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ . Eletrodos: carbono vítreo (trabalho), Ag/Ag ⁺	

(referência) e platina (auxiliar). Eletrólito suporte: KCl 0,1 mol.L ⁻¹ . Padrão interno hexacianoferrato de potássio (E VS ENH = 358 mV).	49
Figura 27 – Espectro eletrônico de 1 em água deionizada. Condições: [1] = 1,28x10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ (375 nm) e 4,28x10 ⁻³ mol.L ⁻¹ (702 nm), pH de dissolução.	50
Figura 28 – Espécies no estado sólido (1), em meio ácido (pH 3) (1b) e neutro/básico (pH 8-10) (1c).	51

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Classificação das enzimas de acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular – IUBMB.	11
Tabela 2 – Modos vibracionais e números de onda (cm^{-1}) dos precursores do $\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2$:.....	41
Tabela 3 – Modos vibracionais e comprimentos de onda (cm^{-1}) dos pró-ligantes e do ligante final.	41
Tabela 4 – Atribuições dos espectros de RMN dos compostos orgânicos sintetizados.	42
Tabela 5 – Dados cristalográficos selecionados e refinamento da estrutura do complexo $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$	44
Tabela 6 – Distâncias e ângulos de ligação da esfera de coordenação dos centros de Cu^{II} em 1	46

Resumo

Uma das áreas de ação para os químicos sintéticos em bioinorgânica é o projeto, síntese e caracterização de moléculas inorgânicas de baixa massa molar que apresentem propriedades estruturais, espectroscópicas e/ou de reatividade que mimetizem metaloenzimas de interesse.

Considerando o exposto, o objetivo principal deste trabalho foi sintetizar e caracterizar um novo ligante bioinspirado em enzimas como a carboxipeptidase A e galactose oxidase, e seu complexo de Cu^{II} que apresentem as características requeridas para que estes sejam considerados modelos estruturais e/ou funcionais para nucleases e/ou proteases.

O composto de coordenação de Cu^{II} obtido foi estruturalmente caracterizado por difratometria de raios X e estudos preliminares em solução foram realizados pela técnica eletroquímica de voltametria cíclica e também por espectroscopia vibracional IV e espectroscopia eletrônica UV-Vis.

Através dos estudos reportados neste trabalho pode-se constatar características estruturais e físico-químicas que fazem do complexo em questão um possível agente de clivagem hidrolítica de ligações peptídicas e ligações fosfodiéster, tal como compostos reportados em publicações recentes, onde têm-se o intuito da exploração da promiscuidade catalítica em diversas áreas da ciência.

1. Introdução

1.1 Enzimas e Química Bioinorgânica

Um dos principais focos de pesquisa em bioinorgânica é o entendimento do modo de ação das enzimas. Enzimas são as proteínas especializadas que apresentam alguma atividade catalítica. Elas aceleram reações químicas sem a formação de produtos colaterais, têm alto grau de especificidade por seus substratos e funcionam em soluções aquosas diluídas em condições brandas de temperatura e pH. Apresenta-se na Tabela 1 (abaixo) a classificação das enzimas de acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB), segundo as reações que as mesmas catalisam (LIPPARD, 1994).

Tabela 1 – Classificação das enzimas de acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular – IUBMB.

Classe enzimática	Função Catalítica / Foco de atuação
Oxirredutases	Reações de transferência de elétrons.
Transferases	Reações de transferência de grupos funcionais.
Hidrolases	Reações de hidrólise.
Liases	Adição ou remoção de grupos e duplas ligações.
Isomerases	Reações de transferência de grupos funcionais dentro de moléculas dando origem às formas isoméricas.
Ligases	Formação de ligações C-C, C-N, C-O e C-S via reações de condensação acopladas à clivagem de ATP.

Apesar de se dizer que a química bioinorgânica é um campo bastante recente da ciência (publicações indicam seu surgimento nos anos 70), há relatos que datam do século XVIII reportando metais ligados em proteínas ou enzimas. Um aspecto marcante deste ramo da ciência é sua interdisciplinaridade, pois engloba diversos campos do conhecimento, como Química, Biologia, Física e Matemática. Seu crescimento deve-se à necessidade de se compreender plenamente os processos biológicos mediados por metais (BEINERT, 2002).

Segundo STRÄTER *et al.*, 1996, cerca de 1/3 de todas as proteínas conhecidas atualmente são metaloproteínas, e muitas das reações críticas à vida na terra são catalisadas por estas biomoléculas. Metaloenzimas constituem um grupo específico de metaloproteínas que contêm no mínimo um íon metálico em seu sítio ativo.

Um exemplo é a galactose oxidase, uma metaloenzima mononuclear de Cu^{II} com geometria piramidal quadrada, capaz de catalisar a reação de oxidação de álcoois primários a seus respectivos aldeídos (ANJOS, 2001). Muitas das idéias que envolvem as teorias gerais de catálise enzimática foram inspiradas e desenvolvidas a partir de estudos de enzimas com sítios ativos mononucleares, tal como a carboxipeptidase A (CPA), uma metaloenzima mononuclear de Zn^{II} . O desenvolvimento da bioinorgânica vêm refletindo então na compreensão estrutural destas macromoléculas e as vias pelas quais as mesmas atuam (CHRISTIANSON, 1989).

Outro exemplo são as PAPs (Fosfatases Ácidas Púrpuras) que, por sua vez, apresentam sítio ativo heterobimetálico composto de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$ (onde M^{II} pode ser Fe, Mn ou Zn) e são capazes de hidrolisar anidridos e ésteres do ácido fosfórico na faixa de pH de 4 a 7 (THAN, 1999 e KLABUNDE, 1997).

A imprescindível contribuição da química Bioinorgânica pode ser constatada em projetos como proteoma e genoma onde as enzimas tem papel muito importante no aprimoramento do conhecimento sobre proteínas e ácidos nucléicos. Estas duas biomoléculas são importantes substratos no metabolismo dos organismos além de desempenhar funções indispensáveis para todos os seres vivos.

1.2 Proteínas e Ácidos Nucléicos

Ligações peptídicas constituem basicamente a união entre o grupo amino de um aminoácido com o grupo carboxilato de outro, respectivamente. A ligação covalente C–N resultante (ligação peptídica) caracteriza a formação de uma amida via um processo de desidratação. Desta maneira, polipeptídeos e proteínas são cadeias poliméricas de aminoácidos presas por ligações peptídicas

(LEHNINGER, 1984). A Figura 1 (abaixo) ilustra a reação de formação de um dipeptídeo.

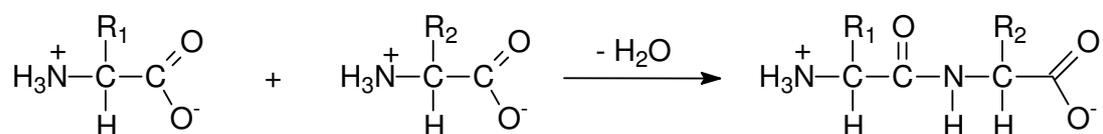


Figura 1 – Reação genérica de formação de um dipeptídeo.

O caráter parcial de dupla ligação não permite que a molécula gire segundo o eixo da ligação peptídica. e esta ordenação planar e rígida é o resultado da estabilização desta região da molécula por ressonância. Assim, o esqueleto resultante é uma série de planos sucessivos separados por grupos metilênicos substituídos, impondo restrições importantes no número de conformações que uma proteína pode adotar (LEHNINGER, 1984).

Uma ligação peptídica pode ser quebrada hidroliticamente com concomitante liberação de aproximadamente 10 kJ.mol^{-1} de energia, porém o processo é extremamente lento. Em 2006, Wolfeden reportou que a velocidade de hidrólise dessas ligações podem atingir valores de $k \sim 10^{-10} \text{ s}^{-1}$, com tempos de meia vida de mais de 600 anos. Em organismos vivos, o processo é facilitado pela ação das enzimas.

Outra espécie de ligação química de fundamental interesse biológico são as ligações fosfodiéster presentes nos ácidos nucléicos. O ácido desoxirribonucléico (DNA) e o ácido ribonucléico (RNA) são os reservatórios moleculares da informação genética.

Quimicamente, esses compostos são biopolímeros constituídos de ribonucleotídeos ou deoxiribonucleotídeos no RNA e DNA, respectivamente. Conforme apresentado na Figura 2, unidades do tipo fósfdiéster se unem a resíduos adjacentes para formar unidades poliméricas açúcar-fosfato (BERG; 2002).

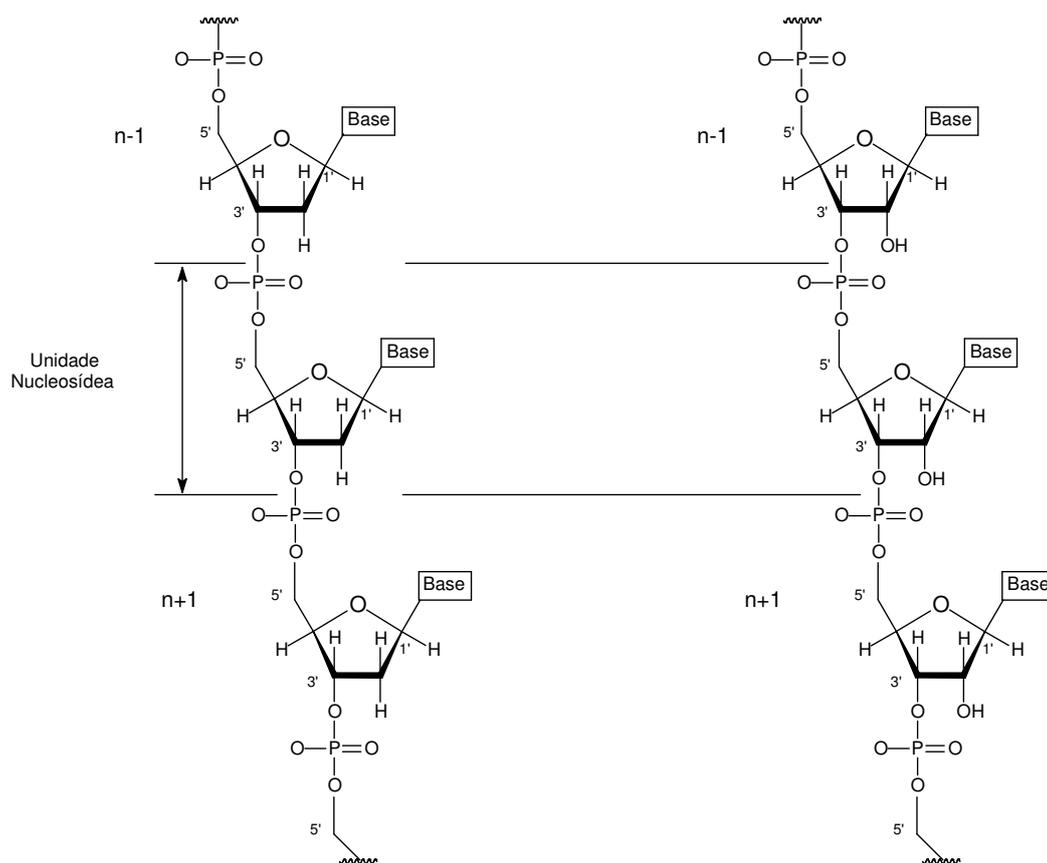


Figura 2 – Estruturas químicas das unidades fosfodiéster do DNA e RNA.

Devido à característica de pareamento, as duas fitas de DNA são ditas complementares. Essa propriedade garante sua replicação precisa e transmissão das informações genéticas via transcrição onde cada fita de DNA serve como molde para a síntese de novas moléculas complementares.

O RNA é formado por uma fita simples, o açúcar do seu esqueleto é a ribose (desoxirribose no DNA) e a base nitrogenada timina é substituída pela uracila (BERG, 2002).

A estabilidade dos ácidos nucléicos em condições fisiológicas e/ou brandas (pH 7,0 e 25 °C) é notavelmente alta. No caso do RNA, diversos estudos cinéticos relatam dados sobre sua hidrólise espontânea ocasionada pelo solvente (H_2O , H^+ e OH^-). Estudos de reações de transesterificação do RNA desenvolvidos por Järvinen e colaboradores, 1991, indicam um tempo de meia-vida de cerca de 110 anos ($k = 2,0 \times 10^{-10} \text{ s}^{-1}$).

Já no caso do DNA, estima-se que a meia-vida de suas ligações fosfodiéster em pH 7,0 e 25°C esteja na ordem de *dezenas de bilhões de anos*.

Vale lembrar que o tempo estimado do surgimento da vida na Terra seja de cerca de 4 bilhões de anos. Assim, para que a hidrólise desses biopolímeros ocorra em poucos minutos, catalisadores, como as metalohidrolases, devem gerar fatores de aceleração na ordem de 10^{17} vezes! (WILLIAMS, 1999).

1.3 Metaloenzimas hidrolíticas e Promiscuidade catalítica

Metalohidrolases mono e binucleares constituem um grande e estruturalmente diverso grupo de enzimas que possuem sítios ativos capazes de catalisar a hidrólise de amidas e ésteres de ácidos carboxílicos e fosfóricos.

A atividade de clivagem hidrolítica apresentada por metalohidrolases como PAPs, CPA, entre outras, podem ser muito úteis, por exemplo, no seqüenciamento de proteínas e DNA onde os substratos não podem ser degradados. Isto se deve ao fato de que a hidrólise promovida gera produtos com possibilidade de serem religados, ampliando horizontes na biotecnologia.

Diversas dessas metaloenzimas hidrolíticas são ao mesmo tempo alvo para o desenvolvimento de fármacos contra variadas enfermidades incluindo osteoporose, câncer, fibrose cística e depressão, além de apresentarem relevância em antiterrorismo e bioremediação, uma vez que podem degradar compostos organofosforados altamente nocivos aos seres humanos, animais e plantas. (MITIC, 2006).

No sentido de desenvolver tais fármacos (que atuam muitas vezes como inibidores enzimáticos), a estrutura e mecanismo catalítico da enzima alvo devem ser conhecidos em detalhes. Destacam-se assim as metalohidrolases que atuam sobre moléculas-chave tais como os ácidos nucleicos (nucleases) e proteínas (proteases), uma vez que estas são as principais responsáveis pela manutenção da vida (KOONIN, 1994).

Estudos acerca da Aminopeptidase P, uma metaloproteína com atividade nativa de protease, revelaram seu poder catalítico curioso ao ser observada atividade frente a hidrólise de triésteres de fosfato. Esta enzima pode então atuar como nuclease, exibindo comportamento catalítico promiscuo (KAZLAUSKAS, 2005)

Desta maneira, *promiscuidade catalítica* é a propriedade conferida a sítios ativos enzimáticos que são capazes de catalisar diferentes reações químicas. Os diferentes substratos e mecanismos das reações determinam a promiscuidade de diversos catalisadores. Por este motivo muitas enzimas vêm sendo largamente exploradas também em biocatálise (LI, 2009).

A importância biológica de nucleases e proteases que atuem hidroliticamente é fonte de inspiração para a prospecção de novos catalisadores promíscuos nativos e artificiais com diversas aplicações antes não exploradas.

Durante as últimas décadas, o desenvolvimento de medicamentos se apoiou na proposta de que princípios ativos altamente seletivos poderiam ser eficientes no tratamento de doenças. Utilizando este tipo de compostos, pesquisadores visavam atingir estruturas singulares relacionadas à patologia em questão, propondo a diminuição dos efeitos colaterais causados por interações indesejáveis. Entretanto, com o decorrer dos estudos de novas drogas altamente seletivas, demonstrou-se que as mesmas poderiam ser, em muitos casos, ineficazes. Isto ressalta a hipótese de que muitas doenças se manifestam através de um intrincado sistema dependente de estruturas biológicas diversificadas em processos simultâneos, onde drogas com atividade promíscua revelam-se promissores candidatos ao combate de variadas patologias (MENCHER, 2005).

Neste contexto, a via bioinorgânica para a compreensão e desenvolvimento de compostos cataliticamente ativos se embasa na criação de modelos bioinspirados na estrutura e ou na funcionalidade de enzimas com qualidades de interesse científico e tecnológico.

1.4 Modelagem biomimética de metalohidrolases

O desenvolvimento de complexos metálicos de baixa massa molecular que mimetizam as características das enzimas é uma notável área de pesquisa na química bioinorgânica. Para isto, a utilização de ligantes e seus respectivos complexos metálicos voltados à catálise constituem um fundamental campo da ciência a ser explorado.

Atualmente, a hidrólise biomimética de ácidos nucleicos e proteínas tem sido alvo de intensa pesquisa em muitos segmentos da biotecnologia e medicina. A habilidade de clivar essas macromoléculas de maneira eficiente, não degradativa e com alto grau de seletividade para sítios e/ou estruturas específicas, pode oferecer muitas aplicações para a manipulação de genes, desenvolvimento de sondas moleculares e ainda novos compostos com finalidades terapêuticas (COWAN, 2001).

Modelar a reatividade de metalohidrolases é, portanto, uma área de grande interesse científico (COWAN, 2001; LIU, 2004 e SMITH, 2007). Paralelamente, a hidrólise de ésteres e anidridos do ácido fosfórico mediada cataliticamente por complexos metálicos mono e multinucleares pode fornecer informações valiosas para a modelagem molecular dos catalisadores, bem como o auxílio na elucidação de vias mecanísticas nas enzimas nativas (LIU, 2004).

Recentemente foram reportados complexos metálicos com ligantes derivados do macrociclo 1,4,7-triazaciclononano entre outros (HEGG, 1995), (HEGG, 1996), (OLIVEIRA, 2009) e (REY, 2007), que são capazes de promover a hidrólise do DNA, bem como hidrolisar ligações peptídicas ou oxidar catecóis à suas respectivas quinonas, apresentando *promiscuidade catalítica*.

Com base nisso e no sucesso de medicamentos que apresentam *promiscuidade catalítica*, cresce o interesse na elaboração de novas drogas multiativas e a reavaliação de seu valor terapêutico (MENCHER, 2005).

Diante do exposto, este trabalho apresenta a exploração do efeito macrocíclico do 1,4,7-triazaciclononano *N*-funcionalizado para a síntese e caracterização de um novo ligante N,O-doador e seu complexo de Cu^{II}, [Cu₂(tacnⁱPr₂mff)Cl₃] (1).

2. Objetivos

2.1 Objetivo Principal

Projetar, sintetizar e caracterizar um novo ligante bioinspirado e seu complexo metálico que apresentem as características requeridas para que este seja considerado um modelo estrutural e/ou funcional para o sítio ativo de nucleases químicas e/ou proteases.

2.2 Objetivos Específicos

- Projeto, síntese e caracterização do ligante inédito 3-[(4,7-diisopropil-1,4,7-triazaciclonoan-1-il)metil]-2-hidróxi-5-metilbenzaldeído($\text{tacn-}^i\text{Pr}_2\text{mff}$)
- Síntese do composto de coordenação de Cu^{II} com o ligante supracitado e sua caracterização por meio de análises estruturais, espectroscópicas, e eletroquímicas.
- Estudo comparativo das propriedades físico-químicas e estruturais do novo composto sintetizado com diferentes nucleases e proteases químicas reportadas na literatura.

3. Parte Experimental

3.1 Materiais

Os reagentes e solventes utilizados foram obtidos de fontes comerciais e empregados sem purificação ou tratamento: acetona, acetonitrila, acetonitrila grau UV/HPLC, ácido bromídrico em ácido acético 33%, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, argônio, bicarbonato de sódio, 2-bromopropano, carbonato de céσιο, carbonato de sódio, cloreto de cobre hidratado, cloreto de potássio, cloreto de *p*-toluenosulfonila, clorofórmio, clorofórmio deuterado 99%+, diclorometano, diclorometano UV/HPLC, dietilenotriamina, etanol, éter etílico, etilenoglicol, fenol, formaldeído, hidróxido de sódio, *p*-cresol, pentóxido de fósforo, sulfato de sódio anidro. Trietilamina foi destilada a pressão reduzida.

3.2 Métodos e Instrumentação

3.2.1 Difractometria de Raios-X

A análise de difração de raios X do complexo $[\text{Cu}_2(\text{tacn-}^i\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$ foi realizada pelo Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os dados foram coletados em um difratômetro Enraf-Nonius CAD-4 à temperatura ambiente. A estrutura cristalina foi resolvida com a utilização do programa SHELXS97 (SHELDRICK, 2008) e os dados refinados pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa, com a utilização do programa SHELXL97 (SHELDRICK, 2008). As representações gráficas das estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa PLATON (SPEK, 2003).

3.2.2 Eletroquímica

Estudos de voltametria cíclica foram realizados a fim de se observar os potenciais dos pares redox do complexo e a reversibilidade dos processos eletroquímicos. Utilizou-se um potenciostato-galvanostato BAS (Bioanalytical Systems, Inc.) modelo Epsilon, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química da UFSC. Os voltamogramas foram registrados em pH em pHs entre 2 e 11, utilizando-se como eletrodos: carbono vítreo (trabalho), Ag/Ag⁺ (referência) e platina (auxiliar). O eletrólito suporte adotado foi KCl 0,1 mol.L⁻¹ e hexacianoferrato de potássio foi utilizado como padrão interno (E VS ENH = 358 mV). Em solução de acetonitrila utilizou-se TBAPF₆ 0,1 mol.L⁻¹ como eletrólito suporte e ferroceno (E VS ENH = 400 mV) como padrão interno.

3.2.3 Espectroscopia eletrônica UV-Vis

Os espectros eletrônicos do complexo foram obtidos em água desionizada com o espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo Lambda-19, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. As análises foram realizadas utilizando-se água desionizada e cubetas de vidro óptico com capacidade para 4 mL e 1 cm de caminho óptico.

3.2.4 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho – IV

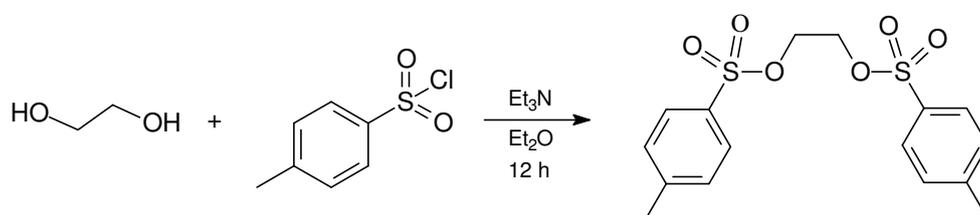
Todos os precursores orgânicos, o ligante tacn^IPr₂mff e seu respectivo complexo de Cu^{II} foram caracterizados por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (4000 à 400 cm⁻¹). Os espectros foram coletados em um espectrofotômetro Varian 3100 FT-IR Excalibur Series onde foi registrada a transmitância (%T) das amostras diluídas em pastilhas de KBr, no Laboratório de Cinética e Fenômenos Interfaciais – Departamento de Química - UFSC.

3.2.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio RMN ¹H e ¹³C.

Os espectros de RMN de ^1H para todos os pró-ligantes e de ^1H e ^{13}C do ligante final foram obtidos em um espectrômetro Bruker-FT400 MHz, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios das amostras foram registrados em ppm utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm) e clorofórmio deuterado com solvente.

3.3 Síntese dos precursores

3.3.1 Síntese do 1,2-bis(*p*-toluenosulfonil)etilenoglicol – **eg-ts₂**



Uma solução levemente aquecida de cloreto de tosila (80,1 g; 0,420 mol; $190,70 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) em 300 mL de éter dietílico foi adicionada gota a gota em um erlenmeyer de 1 L contendo 11,2 mL de etilenoglicol ($1,11 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 12,4 g; 0,200 mol; $62,07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) em 128 mL trietilamina (92,9 g; 0,918 mol; $101,19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). A reação foi mantida sob vigorosa agitação por 12 horas. O precipitado branco formado foi filtrado em funil de placa porosa, lavado com etanol e éter etílico gelado e seco sob vácuo. O composto com elevado grau de pureza pode ser obtido pela recristalização do composto em etanol. Foram obtidos 70,4 g (0,190 mol; $370,44 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) de 1,2-bis(*p*-toluenosulfonil)etilenoglicol, com rendimento 95 %. P.F.: 116-118 °C.

IV (KBr, cm^{-1}): ν (C-H_{ar}) 3100; ν (C-H_{alif}) 2994-2876; ν (C=C) 1596; ν_s (O-S-O) 1360; ν_{ass} (O-S-O) 1175; ν (S-O-C) 1027-820; δ (C-H_{ar}) 769.

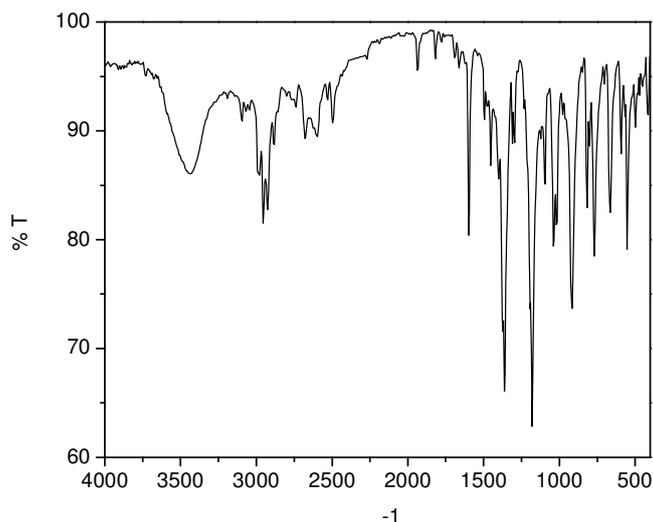


Figura 3 – Espectro vibracional IV do eg-ts₂ em pastilha de KBr.

RMN ¹H - δ_H (400 MHz, CDCl₃), em ppm: 2,45 (s, 6H, CH₃); 4,18 (s, 4H, CH₂); 7,34 (d, 2H, CH_{ar}); 7,73 (d, 2H, CH_{ar}).

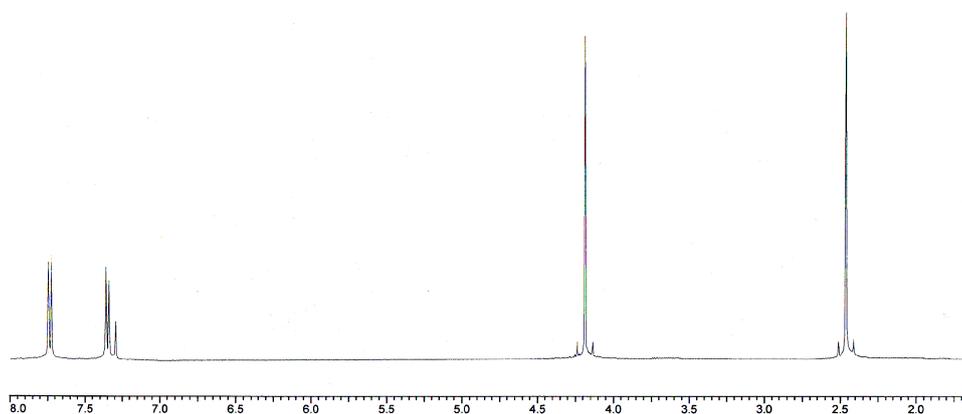
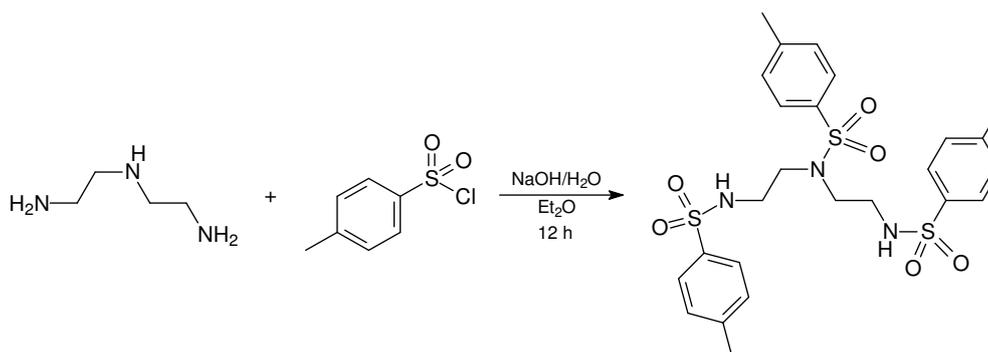


Figura 4 – Espectro RMN ¹H do eg-ts₂ em CDCl₃

3.3.2 Síntese do N,N',N''-tris(p-toluenosulfonil)-dietilenotriamina – **deta-ts₃**



Uma solução levemente aquecida de cloreto de tosilato (125,48 g; 0,658 mol; 190,70 g.mol⁻¹) em 400 mL de éter dietílico foi adicionada gota a gota em um erlenmeyer de 1 L contendo 21,6 mL de dietilenotriamina (0,955 g.mL⁻¹; 20,6 g; 0,200 mol; 103,17 g.mol⁻¹) e 100 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (25,0 g; 0,625 mol; 40,0 g.mol⁻¹). A reação foi mantida sob vigorosa agitação por 12 horas. O precipitado branco formado foi filtrado em funil de placa porosa, lavado com etanol e éter etílico gelado e seco sob vácuo. O composto com elevado grau de pureza pode ser obtido pela recristalização do composto em etanol. Foram obtidos 101,82 g (0,180 mol; 565,72 g.mol⁻¹) de *N,N',N''*-tris(*p*-toluenosulfonil)-dietilenotriamina, com rendimento de 90 %. P.F.: 174-176 °C. IV (KBr, cm⁻¹): ν (N-H) 3292; ν (C-H_{ar}) 3073-3020; ν (C-H_{alif}) 2988-2840; ν (C=C) 1605 e 1444; δ_s (C-H_{alif}) 1493; δ_{ass} (C-H_{alif}) 1375; ν_s (O-S-O) 1326; ν_{ass} (O-S-O) 1158; ν (S-O-C) 1091-832; ν_s (C-N) 1073; δ (C-H_{ar}) 810.

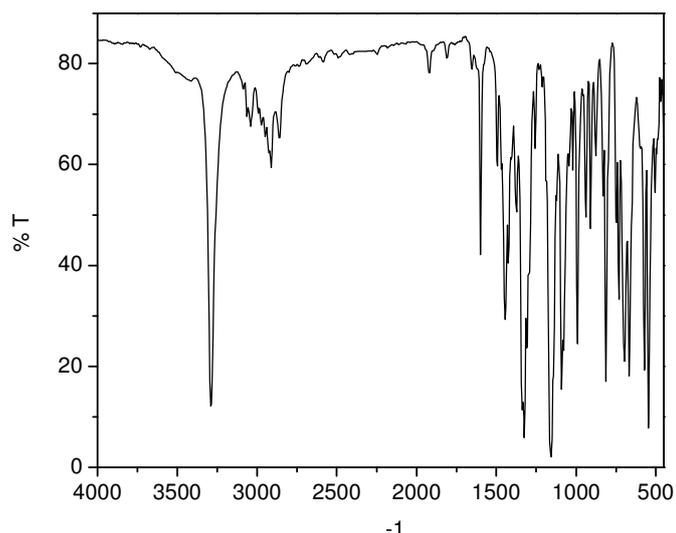


Figura 5 – Espectro vibracional IV do deta-ts₃ em pastilha de KBr.

RMN-¹H - δ_H (400 MHz, CDCl₃), em ppm: 1,60 (s, 2H, NH); 2,43 (s, 9H, CH₃); 3,15 (m, 8H, CH₂); 7,31 (m, 6H, CH_{ar}); 7,61 (d, 2H, CH_{ar}); 7,76 (d, 3H, CH_{ar}); 7,84 (d, 1H, CH_{ar}).

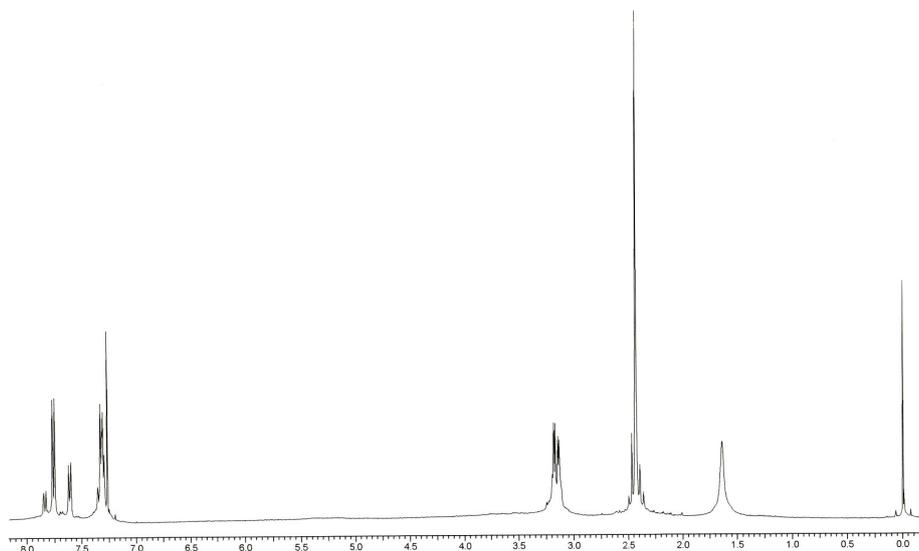
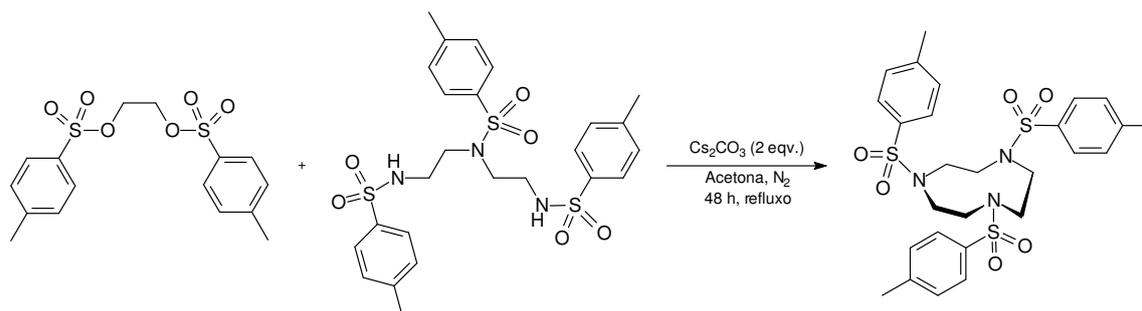


Figura 6 – Espectro RMN ^1H do deta-ts₃ em CDCl_3 .

3.3.3 Síntese do 1,4,7-tris-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano – **tacn-ts₃**



Em um balão de 2 L foram adicionados 65,2 g de carbonato de céσιο (0,200 mol; $325,82 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) em 600 mL de acetona tratada com 100 g de sulfato de sódio, sob nitrogênio. Em seguida, 53,7 g de, *N,N,N'*-tris(*p*-toluenosulfonil)-dielenotriamina (95 mmol; $565,72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) foram adicionados ao sistema sob fluxo de nitrogênio e deixado em refluxo durante 1 hora. À suspensão formada, adicionou-se 35,2 g de 1,2-bis(*p*-toluenosulfonil)etilenoglicol (95 mmol; $370,44 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) sólido, seguido de 600 mL de acetona previamente tratada e a reação foi deixada em refluxo por 48 h. O solvente foi então rotaevaporado a pressão reduzida e ao sólido branco restante foram adicionados 800 mL de água. A suspensão foi mantida sob vigorosa agitação durante 1 hora e posteriormente filtrada em funil de placa porosa, sendo o sólido branco lavado três vezes com água, etanol gelado e éter gelado. Foram obtidos 47,8 g (80,8 mmol; $591,76$

g.mol⁻¹) de 1,4,7-tris-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclonoano, com rendimento de 85 %. P.F.: 210 °C.

IV (KBr, cm⁻¹): ν (C-H_{ar}) 3091-3015; ν (C-H_{alif}) 2985-2848; ν (C=C) 1599 e 1448; δ_s (C-H_{alif}) 1497; δ_{ass} (C-H_{alif}) 1384; ν_s (O-S-O) 1327; ν_{ass} (O-S-O) 1158; ν (S-O-C) 1089-859; ν_s (C-N) 1087; δ (C-H_{ar}) 815.

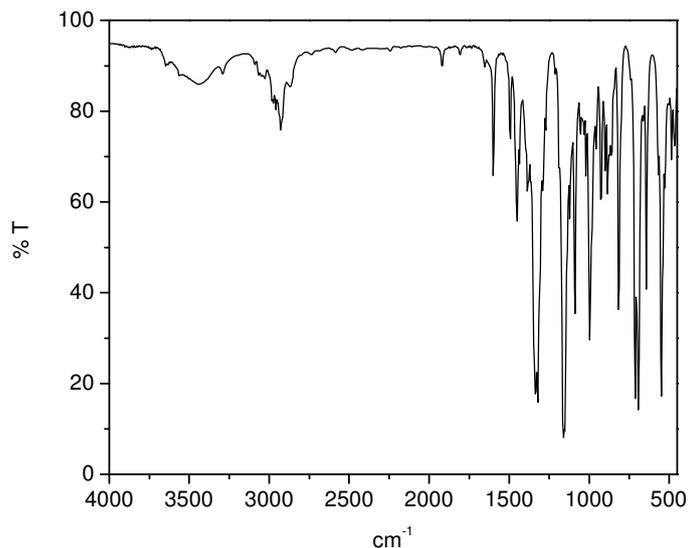


Figura 7 – Espectro vibracional IV do tacn-ts₃ em pastilha de KBr.

RMN-¹H - δ_H (400 MHz, CDCl₃), em ppm: 2,44 (s, 9H, CH₃); 3,42 (s, 12H, CH₂); 7,33 (d, 6H, CH_{ar}); 7,70 (d, 6H, CH_{ar}).

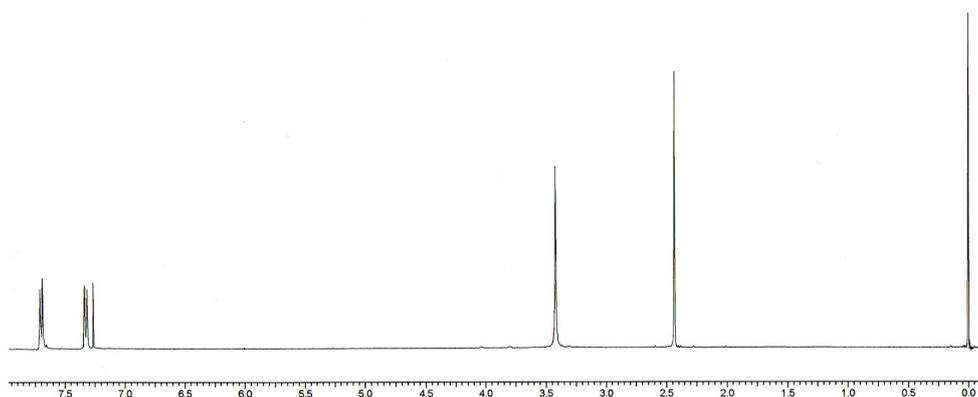
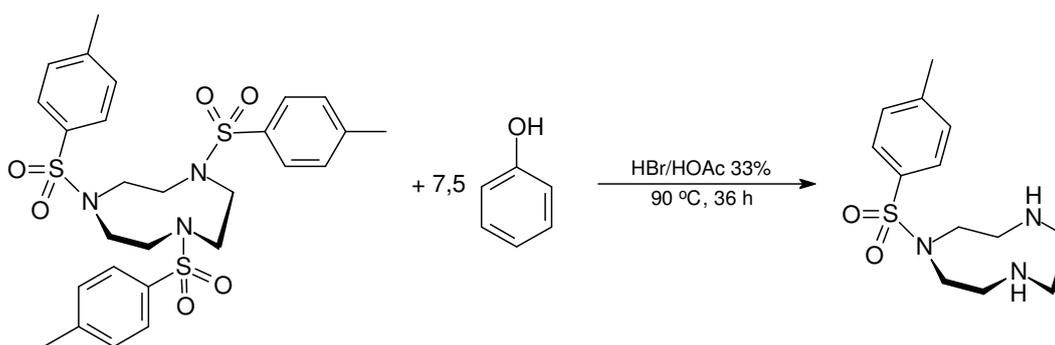


Figura 8 – Espectro RMN ¹H do tacn-ts₃ em CDCl₃.

3.3.4 Síntese do 1-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano – **tacn-ts**



Em um balão de 1 L foram dissolvidos 37,3 g de 1,4,7-tris-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano (63 mmol; 591,76 g.mol⁻¹) e 44,4 g de fenol (0,472 mol; 94,11 g.mol⁻¹) em 500 mL de HBr/CH₃COOH 33%. A mistura foi aquecida a 90° C por 36 horas. O precipitado formado foi então filtrado em funil de placa porosa, lavado com etanol e éter gelado. O produto branco coletado foi dissolvido em 125 mL de hidróxido sódico 1,0 mol.L⁻¹, mantendo-se o pH acima de 12. O composto foi extraído com 10 porções de 50 mL de clorofórmio, e as fases orgânicas foram combinadas e secas com sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido por evaporação rotatória e um óleo levemente avermelhado que cristaliza a pressão reduzida foi obtido. Foram obtidos 13,4 g (47,2 mmol; 283,39 g.mol⁻¹) de 1-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano, com rendimento de 75 %. P.F.: 86 °C.

IV (KBr, cm⁻¹): ν (N-H) 3300; ν (C-H_{ar}) 3095-3027; ν (C-H_{alif}) 2929-2835; ν (C=C) 1606 e 1454; δ_s (C-H_{alif})1482; δ_{ass} (C-H_{alif})1384; ν_s (O-S-O) 1333; ν_{ass} (O-S-O) 1158; ν (S-O-C) 1087-859; ν_s (C-N) 1095; δ (C-H_{ar}) 820.

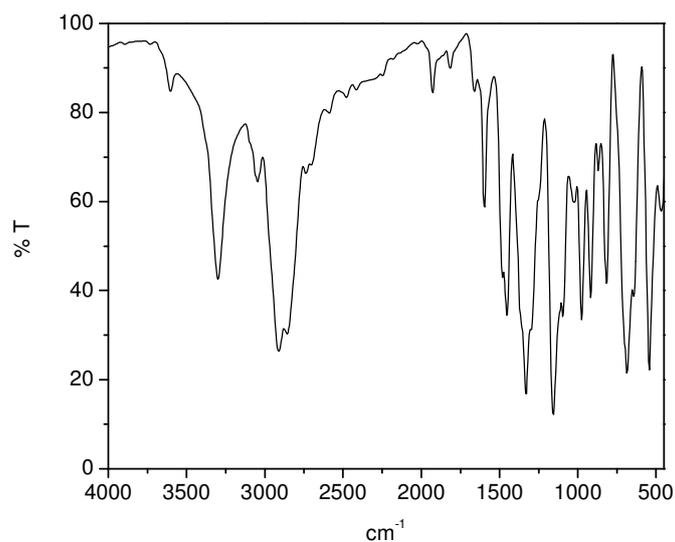


Figura 9 – Espectro vibracional IV do tacn-ts em pastilha de KBr.

RMN-¹H - δ_H (400 MHz, CDCl₃), em ppm: 1,77 (s, 2H, NH); 2,40 (s, 3H, CH₃); 2,86 (s, 4H, CH₂); 3,05 (m, 4H, CH₂); 3,16 (m, 4H, CH₂); 7,28 (d, 2H, CH_{ar}); 7,66 (d, 2H, CH_{ar}).

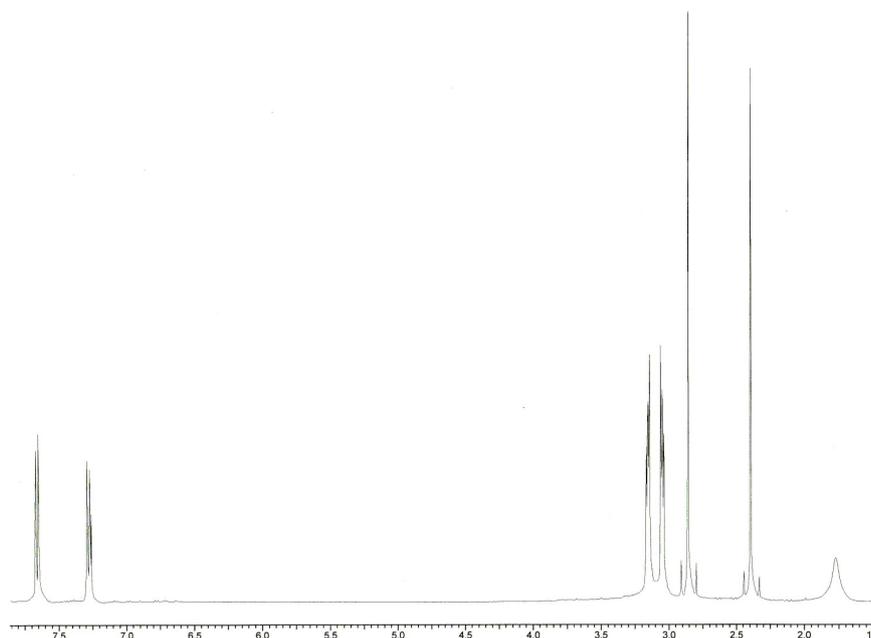
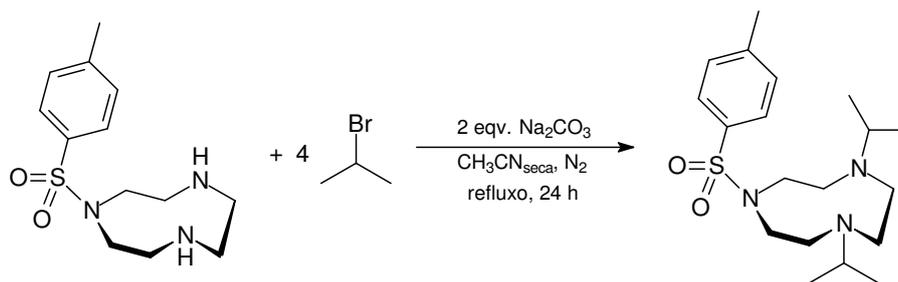


Figura 10 – Espectro RMN ¹H do tacn-ts em CDCl₃.

3.3.5 Síntese do 1,4-diisopropil-7-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclono-nano – **tacnⁱPr₂-ts**



Foram dissolvidos em um balão de 100 mL 13,4 g de 1-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclono-nano (47,2 mmol; 283,39 g.mol⁻¹) em 40 mL de acetonitrila seca. O sistema foi desgaseificado com purga de nitrogênio por 10 minutos. Esta solução foi transferida sob atmosfera inerte para um balão de três bocas de 125 mL contendo 20,0 g de carbonato de sódio (189 mmol; 105,99 g.mol⁻¹). Uma solução de 17,7 mL de 2-bromopropano (1,31 g.mL⁻¹; 23,2 g; 0,189 mol; 122,99 g.mol⁻¹) e 30 mL de acetonitrila seca foi preparada em um balão de 50 mL, onde por 5 minutos foi desgaseificado com nitrogênio e transferido ao balão de três bocas inicial. O sistema foi mantido sob fluxo de nitrogênio constante até a temperatura de refluxo ser atingida. O sistema foi então lacrado e mantido sob agitação por 24 horas. O meio reacional foi resfriado a temperatura ambiente, o precipitado removido por filtração e lavado com acetonitrila gelada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida restando um óleo amarelado o qual foi dissolvido em 100 mL de clorofórmio e lavado com uma solução aquosa (20 mL) de NaOH 1,0 mol.L⁻¹. A solução aquosa foi extraída com clorofórmio (6x 50mL), as fases orgânicas foram combinadas e secas com sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido a pressão reduzida produzindo um óleo amarelado que foi utilizado sem maior purificação. Foram obtidos 17,0 g (46,3 mmol; 367,55 g.mol⁻¹) de 1,4-diisopropil-7-(*p*-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclono-nano, com rendimento de 98 %.

IV (KBr, cm⁻¹): ν (C-H_{ar}) 3064 e 3028; ν (C-H_{alif}) 2962-2871; ν (C=C) 1598 e 1448; δ_s (C-H_{alif}) 1495; δ_{ass} (C-H_{alif}) 1384; ν_s (O-S-O) 1337; ν_{ass} (O-S-O) 1158; ν (S-O-C) 1090-878; ν_s (C-N) 1091; δ (C-H_{ar}) 818.

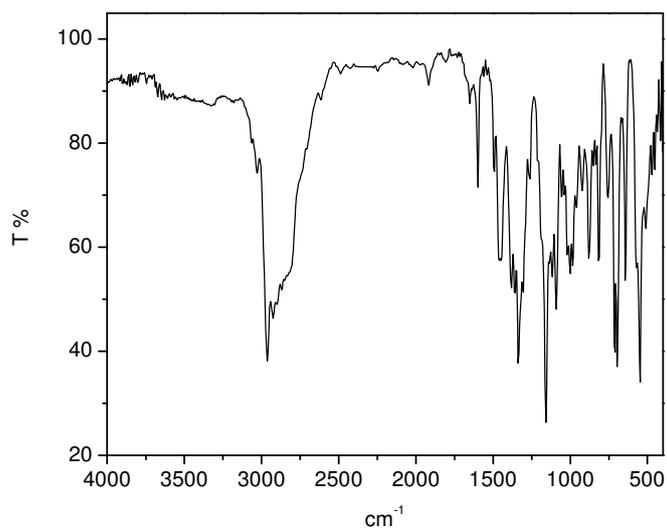


Figura 11 – Espectro vibracional IV do $\text{tacn}^i\text{Pr}_2\text{-ts}$ em pastilha de KBr.

RMN- ^1H - δ_{H} (400 MHz, CDCl_3), em ppm: 0,93 (d, 12H, CH_3); 2,41 (s, 3H, CH_3); 2,45 (s, 4H, CH_2); 2,77 (h, 2H, $\text{CH}_{i\text{Pr}}$); 2,85 (m, 4H, CH_2); 3,29 (m, 4H, CH_2); 7,28 (d, 2H, CH_{ar}); 7,67 (d, 2H, CH_{ar}).

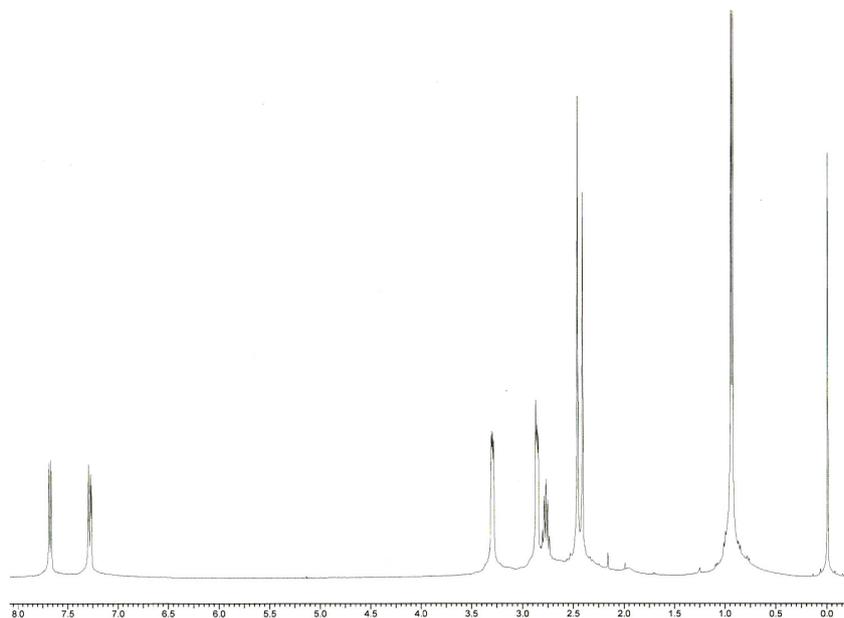
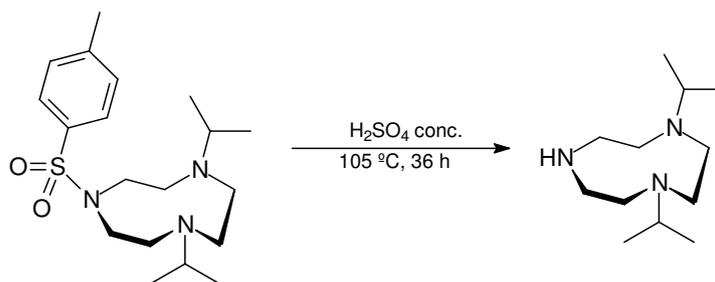


Figura 12 – Espectro RMN ^1H do $\text{tacn}^i\text{Pr}_2\text{-ts}$ em CDCl_3 .

3.3.6 Síntese do 1,4-diisopropil-1,4,7-triazaciclononano – **tacnⁱPr₂**



Foram adicionados em um balão de 250 mL 19,6 g (53,3 mmol; 367,55 g.mol⁻¹) de 1,4-diisopropil-7-(*p*-toluenosulfonyl)-1,4,7-triazaciclononano e, lentamente gotejados 70,9 mL de ácido sulfúrico concentrado sob agitação e a mistura foi aquecida a 105 °C por 36 horas. A solução foi então resfriada e transferida lentamente sobre gelo picado. A suspensão escura intensa foi agitada com carvão ativo por 2 horas, filtrada sobre celite. O béquer foi colocado em banho de gelo e o pH elevado acima de 12 com a adição de hidróxido de sódio. O sulfato de sódio foi removido por filtração e o produto extraído da fase aquosa com diclorometano (10 x 50 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com sulfato de sódio anidro. A mistura foi filtrada e o solvente evaporado a pressão reduzida produzindo um óleo âmbar que foi utilizado sem maiores purificações. Foram obtidos 10,0 g (46,9 mmol; 213,37 g.mol⁻¹) de 1,4-diisopropil-1,4,7-triazaciclononano, com rendimento de 88 %.

IV (KBr, cm⁻¹): ν (N-H) 3257; ν (C-H_{alif}) 2962-2822; δ (C-H_{alif}) 1467; δ_{ass} (C-H_{alif}) 1384; ν_s (C-N) 1093.

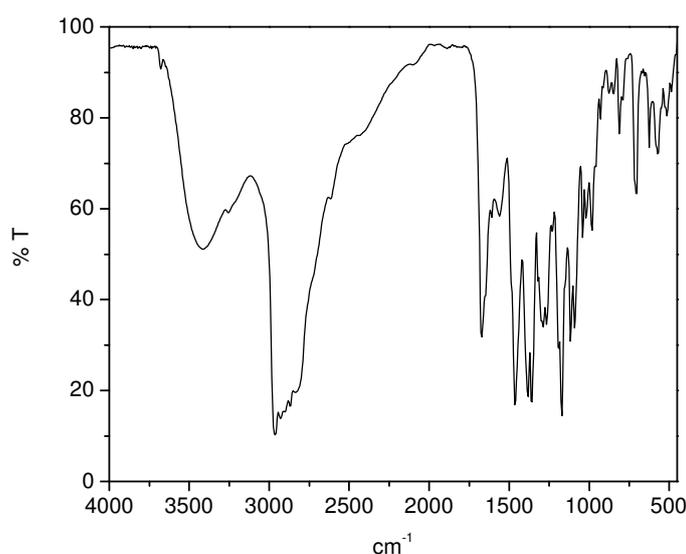


Figura 13 – Espectro vibracional IV do tacnⁱPr₂ em pastilha de KBr.

RMN- ^1H - δ_{H} (400 MHz, CDCl_3), em ppm: 0,98 (d, 12H, CH_3); 2,46 (s, 4H, CH_2); 2,56 (m, 4H, CH_2); 2,66 (m, 4H, CH_2); 2,84 (h, 2H, CH_{iPr}).

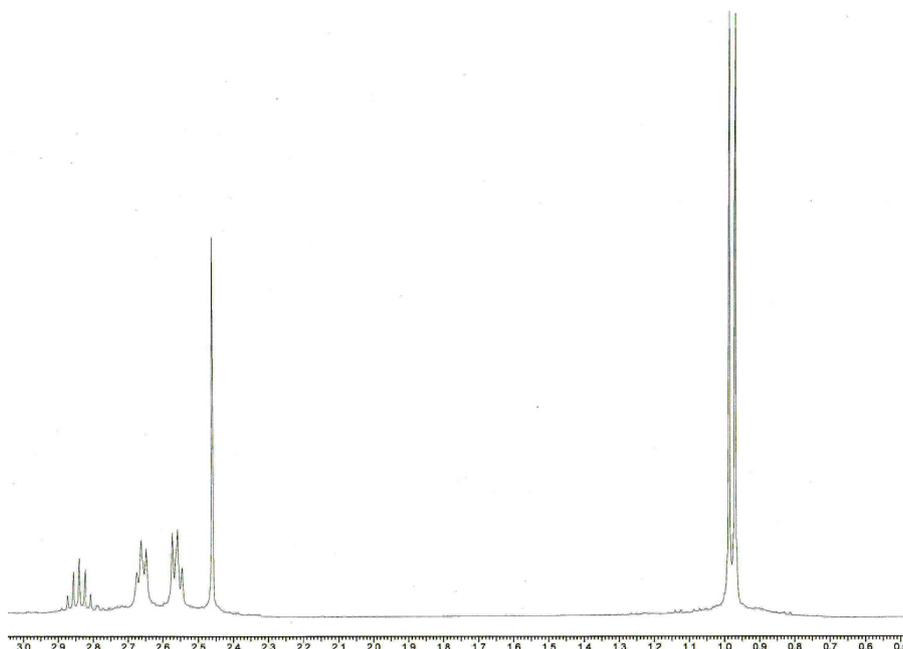
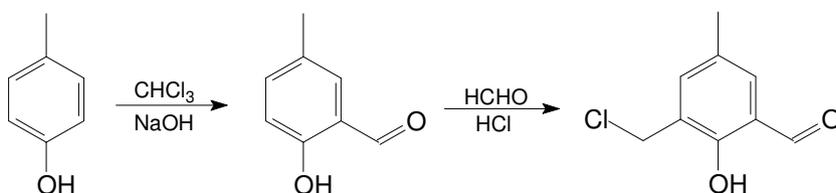


Figura 14 – Espectro RMN ^1H do $\text{tacn}^{\text{iPr}}_2$ em CDCl_3 .

3.3.7 Síntese do 2-clorometil-4-metil-6-formil-fenol – **cmff**



O reagente 2-hidroxi-5-metilbenzaldeído (Hmb) foi obtido submetendo-se p-cresol ao procedimento de formilação de Reimer-Tiemann descrito por THOER.

Em um balão de 5 L, equipado com condensador e agitador mecânico, adicionaram-se 3 L de clorofórmio e 173,71 g de p-cresol (1,6 mol, $108,14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $1,034 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$). O balão de três bocas foi colocado em um banho com temperatura controlada entre 56 e 60 °C e, sob agitação, adicionaram-se 480 g de NaOH (12 mol, $40 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), previamente dissolvidos em 300 mL de água destilada, em pequenas porções durante as 3 primeiras horas de reação. (A adição do NaOH deve ser feita de forma lenta e cuidadosa, pois a reação é muito

exotérmica). A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por mais uma hora e então deixou-se resfriar até a temperatura ambiente. A seguir, adicionou-se cerca de 1,5 L de água destilada e, ainda sob agitação, iniciou-se a acidificação com HCl concentrado até pH = 2. A fase orgânica foi então separada, lavada com água destilada, seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado à pressão reduzida. O material restante (óleo escuro viscoso) foi destilado à pressão reduzida com auxílio de uma coluna vigreux de 40 cm (55 – 65 °C a 0,1 mmHg). Obteve-se 100,0 g (0,73 mol, 136,15 g.mol⁻¹) de 2-hidróxi-5-metilbenzaldeído (Hmb) como um sólido branco cristalino com rendimento de 46% em relação ao p-cresol. P.F.: 56 °C.

IV (KBr), em cm⁻¹: ν (O-H) 3350; ν (C-H_{ar}) 3029; ν (C-H_{alif}) 2990-2864; ν (C-H_{ald}) 2738; ν (C=O) 1658; ν (C=C) 1590-1484; δ (O-H) 1372; ν (C-O_{fenol}) 1282; δ (C-H_{ar}) 742.

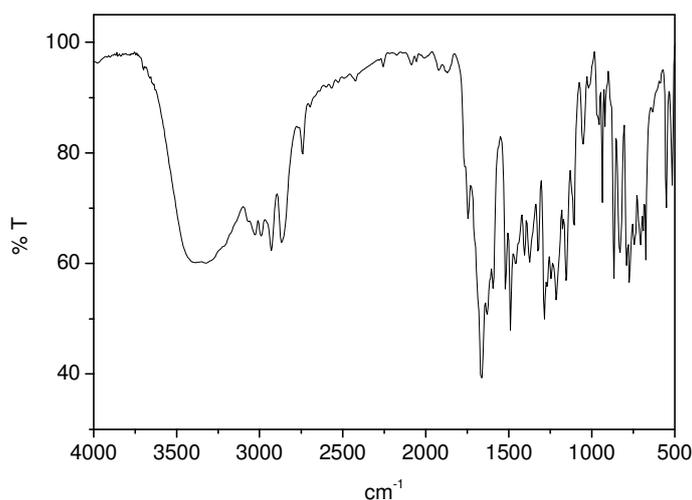


Figura 15 – Espectro vibracional IV do Hmb em pastilha de KBr.

RMN ¹H - δ_H (200 MHz; CDCl₃), em ppm: 2,32 (s, 3 H, CH₃); 6,88 (d, 1 H, CH_{ar}); 7,32 (dd, 2 H, CH_{ar}); 9,83 (s, 1 H, CH_{ald}); 10,83 (s, 1 H, OH_{fenol} – troca com D₂O).

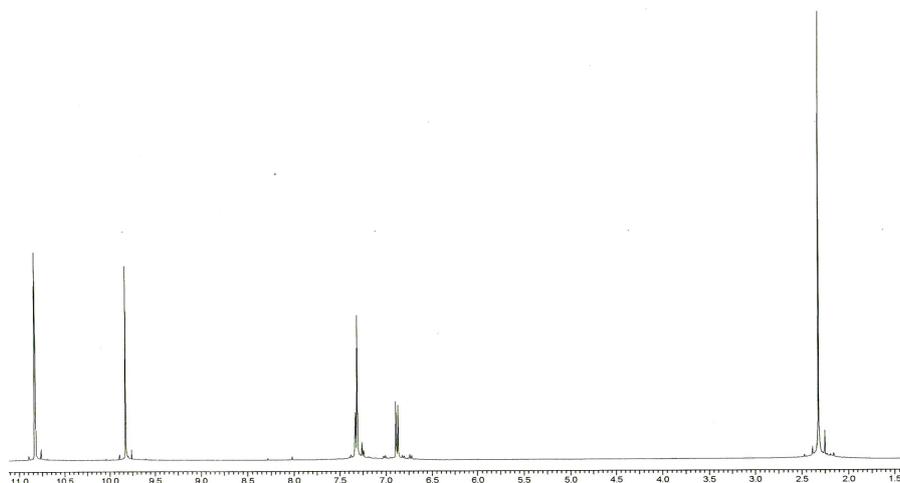


Figura 16 – Espectro RMN ^1H do Hmb em CDCl_3 .

Para obtenção do cmff adotou-se o seguinte procedimento. Em um balão de 250 mL foram acondicionados 6,4 g de Hmb ($4,7 \text{ mmol}$, $136,15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), 7,5 mL de formaldeído 37% e 25 mL de ácido clorídrico concentrado. Essa mistura foi refluxada durante 15 minutos sob agitação magnética e na seqüência resfriada até $0 \text{ }^\circ\text{C}$, formando um precipitado compacto no fundo do balão, que foi triturado, filtrado sob vácuo e recristalizado em etanol absoluto a quente. O sólido obtido foi deixado secar em dessecador com sílica sob vácuo por 12 horas e estocado sob argônio a temperatura inferior a $-10 \text{ }^\circ\text{C}$. Obtiveram-se 5 g do produto 2-clorometil-4-metil-6-formil-fenol (cmff) ($184,62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) com 70 % de rendimento. P.F.: $95\text{-}96 \text{ }^\circ\text{C}$

CUIDADO: Durante essa reação forma-se o composto bis-(clorometil)éter, altamente tóxico e comprovadamente um potente agente carcinogênico. Portanto, essa reação deve ser realizada em capela com boa exaustão, utilizando-se máscara e luvas, e todo o material utilizado deve ser lavado com solução alcalina (por exemplo, etanol/água/KOH: 60 mL/40 mL/5 g, na capela), pois o bis-(clorometil)éter é rapidamente hidrolisado na presença de base. A solução reacional e todos os resíduos devem ser descartados somente após correção do pH ($\text{pH} > 9,0$) por adição hidróxido de sódio ou potássio.

IV (KBr), em cm^{-1}): ν (O-H) 3350; ν (C-H_{ar}) 3024; ν (C-H_{alif}) 2989-2864; ν (C-H_{ald}) 2738; ν (C=O) 1658; ν (C=C) 1590-1484; δ (O-H) 1372; ν (C-O_{fenol}) 1282; δ (C-H_{ar}) 742.

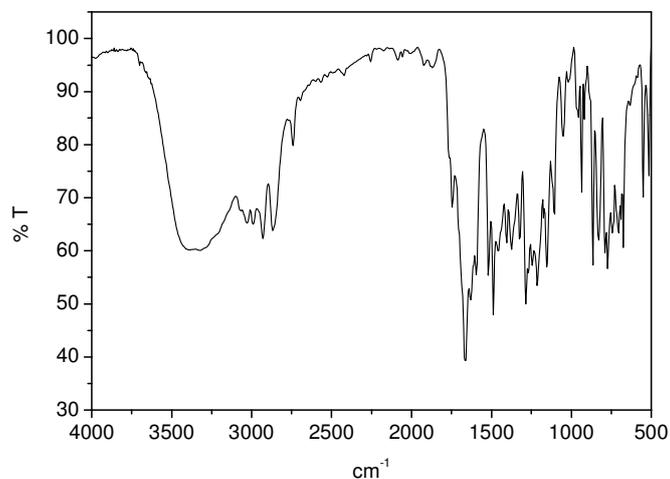


Figura 17 – Espectro vibracional IV do cmff em pastilha de KBr.

^1H NMR, ppm (CDCl_3): 2,35 (s, 3H, CH_3); 4,67 (s, 2 H, CH_2); 7,40 (2s, 2H, CH_{ar}); 9,86 (s, 1 H, CH_{ald}); 11,25 (s, 1 H, OH).

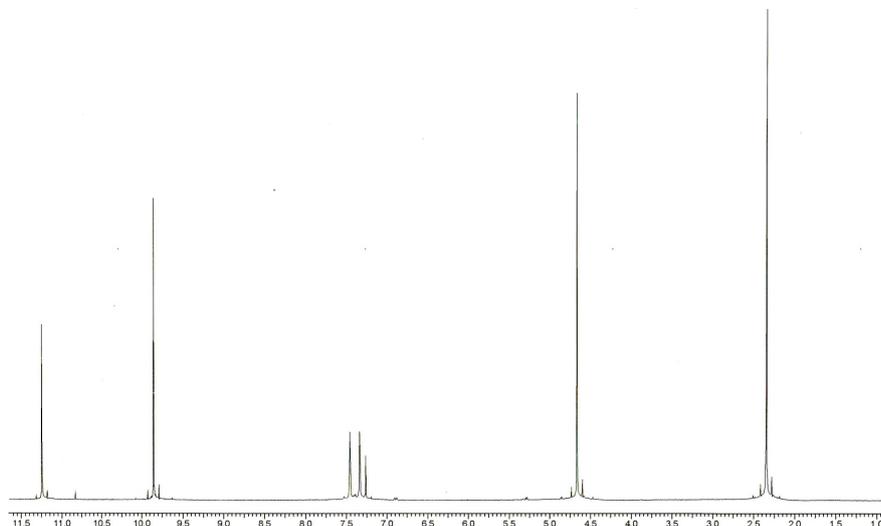
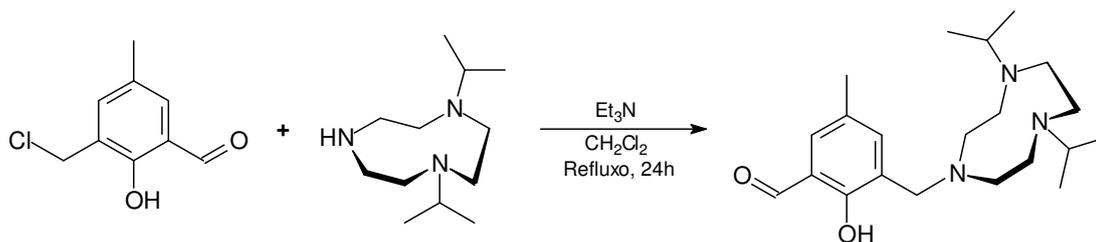


Figura 18 – Espectro RMN ^1H do cmff em CDCl_3 .

3.4 Síntese do ligante 2-[(4,7-diisopropil-1,4,7-triazaciclonoan-1-il)metil]-6-(formil)-4-metilfenol – tacnⁱPr₂mff



Foram adicionados em um balão de 125 mL 2,95 g (16,0 mmol; 184,62 g.mol⁻¹) de 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol (cmff) dissolvidos em 40 mL de diclorometano. A esta solução, adicionou-se lentamente e sob agitação, uma solução contendo 3,41 g 1,4-diisopropil-1,4,7-triazaciclonoano (tacnⁱPr₂) (16,0 mmol; 213,37 g.mol⁻¹) e 4,50 mL de trietilamina (3,24 g, 32,0 mmol; 101,19 g.mol⁻¹; 0,72 g.mL⁻¹) dissolvidos em 30 mL de diclorometano, com auxílio de um funil de adição. A mistura foi refluxada por 24 h e a solução resultante foi transferida para um funil de separação onde foi lavada com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (5 porções de 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada, e o solvente evaporado a pressão reduzida. O óleo amarelo resultante foi dissolvido em 30 mL de acetonitrila aquecida, transferido para um béquer e levado ao freezer para precipitação. Após algumas horas o produto sólido cristalino foi filtrado, lavado com acetonitrila gelada e acondicionado em dessecador com sílica. Obtiveram-se 2,57 g (7,10 mmol; 361,53 g.mol⁻¹) do 2-[(4,7-diisopropil-1,4,7-triazaciclonoan-1-il)metil]-6-(formil)-4-metilfenol (tacnⁱPr₂mff) com rendimento de 45 %. P.F.: 85 °C.

IV (KBr, cm⁻¹): ν (O-H) 3428; ν (C-H_{arom}) 3054; ν (C-H_{alif}) 2958-2814; ν (C-H_{ald}) 2736; ν (C=O) 1671; ν_s (C=C) 1595; δ_s (C-H_{alif}) 1464; δ_{ass} (C-H_{alif}) 1379; δ (O-H) 1356; ν (C-O_{fenol}) 1270; ν_s (C-N) 1087; δ (C-H_{ar}) 716.

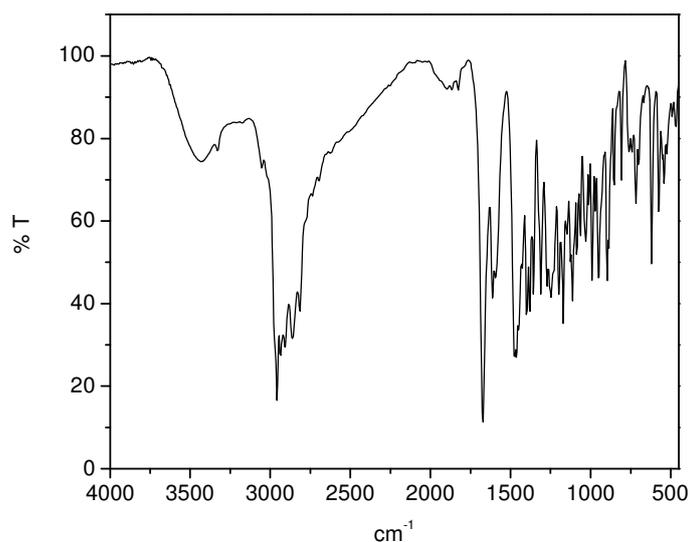


Figura 19 – Espectro vibracional IV do tacn¹Pr₂mf em pastilha de KBr.

RMN-¹H - δ_H (400 MHz, CDCl₃), em ppm: 0,97 (d, 12H, CH₃); 2,23 (s, 3H, CH₃); 2,47 (s, 4H, CH₂); 2,71 (m, 4H, CH₂); 2,89 (h, 2H, CH_{iPr}); 2,99 (s, 4H, CH₂); 3,81 (s, 2H, CH₂); 7,00 (s, 1H, CH_{ar}); 7,45 (s, 1H, CH_{ar}); 8,60 (s, 1H, OH); 10,47 (s, 1H, CH_{ald}).

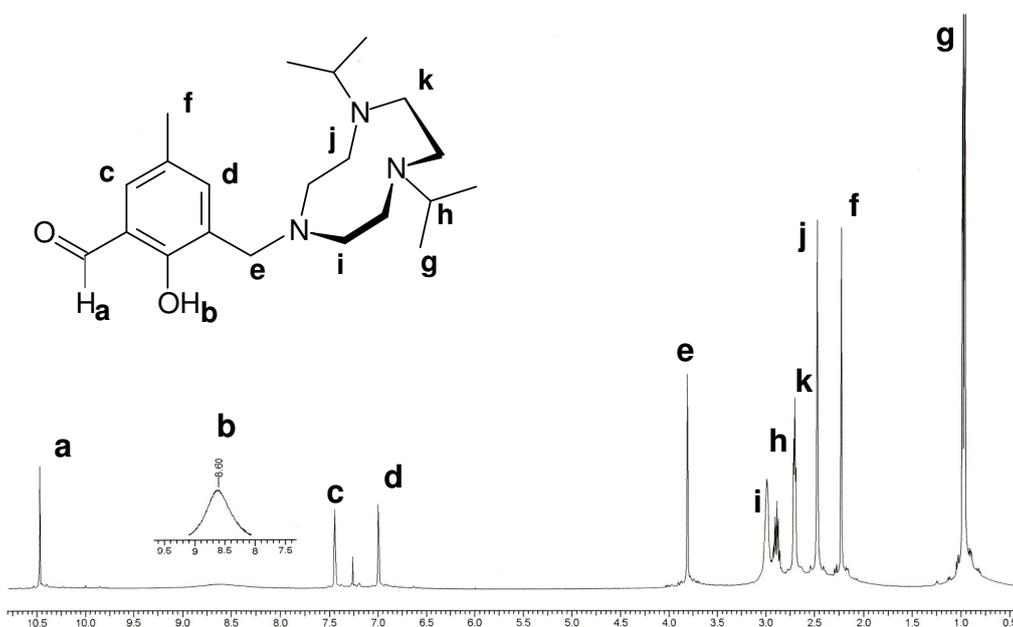


Figura 20 – Espectro RMN ¹H do tacn¹Pr₂mf em CDCl₃.

RMN- ^{13}C - δ_{C} (100,60 MHz, CDCl_3) em ppm: 18,53 (CH_3 , ^iPr); 20,48 (CH_3 , metil); 52,89 (CH , ^iPr); 53,47, 53,75, 55,04 (CH_2 , tacn); 60,18 (CH_2 , metileno); 123,26, 124,69, 126,90, 127,34, 135,96, 161,53 (C, anel aromático); 191,36 (CH , aldeído).

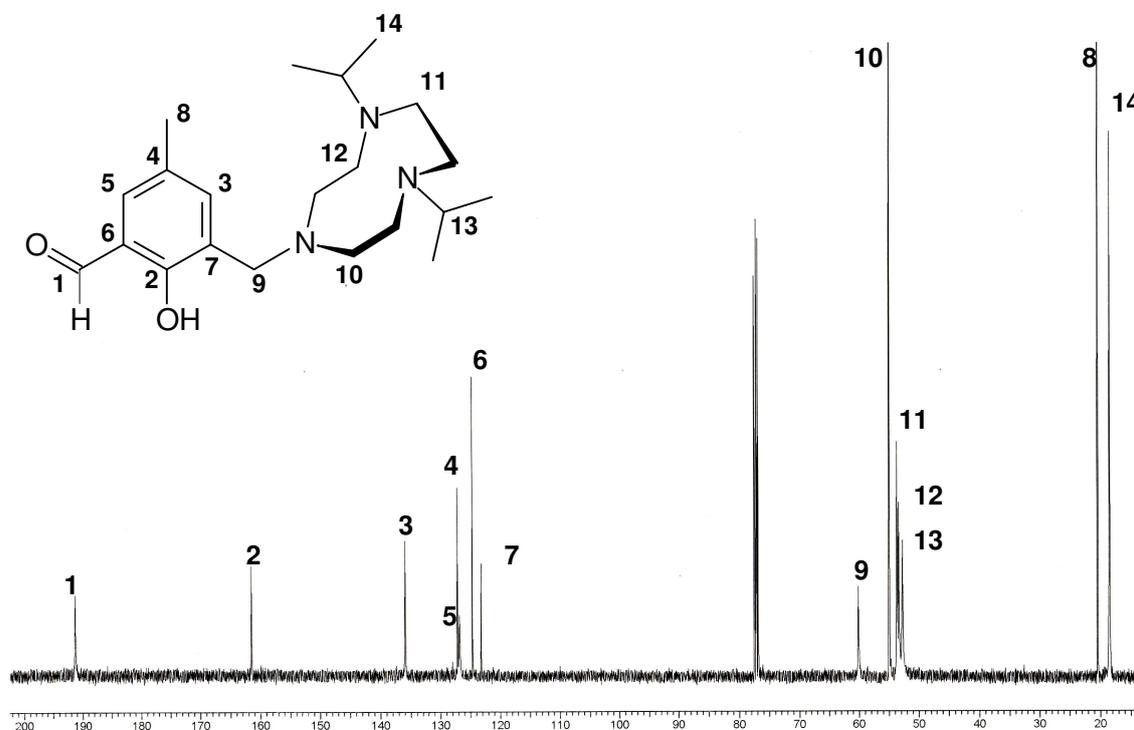
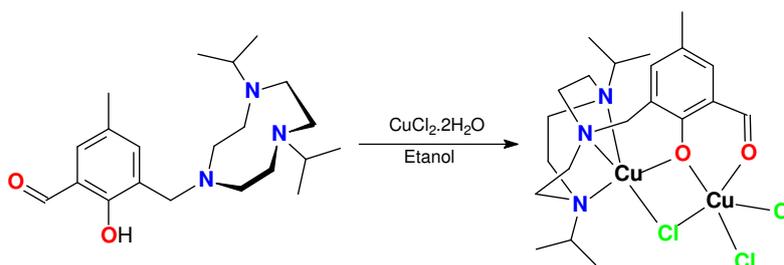


Figura 21 – Espectro RMN ^{13}C do $\text{tacn}^i\text{Pr}_2\text{mff}$ em CDCl_3 .

3.5 Síntese do complexo $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^i\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3] - 1$



Num béquer contendo 20 mL de uma solução etanólica com 0,180 g do ligante $\text{tacn}^i\text{Pr}_2\text{mff}$ (0,5 mmol; $361,53 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) foi adicionado 0,085 g de $\text{Cu}\cdot\text{Cl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol; $170,48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) dissolvidos em 10 mL do mesmo solvente. A mistura foi mantida sob agitação durante 15 minutos, filtrada por gravidade e a solução resultante deixada em repouso. Após 24 horas, foi

detectada a presença de monocristais castanho-escuros adequados à resolução estrutural via difratometria de raios X.

IV (KBr, cm^{-1}): ν (C-H_{arom}) 2997; ν (C-H) 2956-2863; ν (C=O) 1620; ν_{s} (C=C) 1567; δ_{s} (CH_2) 1465; ν_{s} (C-N) 1089.

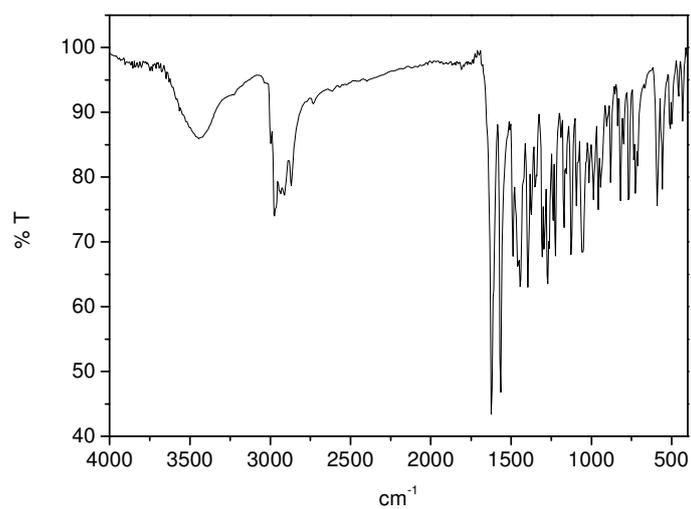


Figura 22 – Espectro vibracional IV do complexo **1** em pastilha de KBr.

4. Resultados e Discussão

4.1 Caracterização do ligante

Adotando-se a rota sintética exposta anteriormente foi possível obtenção todos os precursores e o ligante desejado com rendimentos satisfatórios. Os métodos de purificação foram eficientes e os produtos de todas as etapas foram devidamente caracterizados por espectroscopia de infravermelho (IV), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e ^{13}C) e, ponto de fusão, para compostos obtidos no estado sólido.

4.1.1 Espectroscopia vibracional no Infravermelho – IV

Todas as etapas referentes à síntese dos precursores e ligante final foram monitoradas por IV, onde se observou bandas de absorção dos grupamentos característicos de cada composto orgânico em questão.

O espectro vibracional IV do eg-ts₂ apresentou bandas características do grupamento sulfônico de 1360 a 820 cm^{-1} , confirmando a presença dos grupos protetores (tosila) ligados ao etilenoglicol. São observadas também, em 1596 e 769 cm^{-1} , estiramentos das ligações C-H aromáticas dos grupos tosila. Na região de 2900 cm^{-1} estão presentes bandas referentes ao estiramento C-H do esqueleto metilênico proveniente do etilenoglicol e de grupos metila ligados ao anel aromático.

Para o precursor deta-ts₃ percebe-se a presença de grupos alifáticos e aromáticos tal como no composto anteriormente analisado. Destaca-se o deslocamento para menores números de onda nos estiramentos do esqueleto metilênico, neste caso, ligado a átomos de nitrogênio. Observa-se também a presença de estiramentos N-H em 3292 cm^{-1} . Em 1073 cm^{-1} encontra-se a banda de estiramento C-N. O grupamento sulfônico também foi detectado no espectro vibracional desta molécula.

O espectro IV do composto tacn-ts₃ apresenta modos vibracionais similares aos anteriores no que diz respeito a grupos aromáticos e alifáticos. Destaca-se nesta etapa o desaparecimento de vibrações N-H, confirmando a reação de ciclização e assim a obtenção do macrociclo tritosilado desejado.

O tacn-ts não apresenta alterações vibracionais significativas nas porções alifáticas da molécula onde observou-se um pequeno deslocamento para menores energias nestas regiões devido à saída de dois grupos *p*-toluenosulfônicos. A reaparição de bandas de absorção de estiramento N-H confirma a desproteção que gerou aminas secundárias.

O espectro vibracional do tacnⁱPr₂-ts mostra mudanças nas bandas de absorção na região de 2900 cm⁻¹ causadas pela presença dos grupos isopropil. Novamente, a formação de aminas terciárias pode ser evidenciada com o desaparecimento de estiramento N-H em regiões de alta energia. A presença do grupo protetor restante é confirmada pelas absorções do anel aromático e do grupo sulfonamida.

No composto produto tacnⁱPr₂, a desproteção da amina tosilada resulta no desaparecimento de bandas em 1337 e 1158 cm⁻¹. Novamente, a banda de absorção do grupo N-H indica que a amina secundária foi formada na reação.

O pró-ligante cmff apresentou absorções referentes às porções alifáticas e aromáticas (C-H) entre 3020 e 2860 cm⁻¹, bem como estiramentos C=C aromáticos em 1590 e 1484 cm⁻¹ e estiramento C-H acilico em 2738 cm⁻¹.

O ligante final tacnⁱPr₂mff apresenta absorções típicas dos grupos OH do fenol (3428 cm⁻¹), estiramentos C-H aromáticos e alifáticos entre 3054 e 2814 cm⁻¹ e do grupo aldeído (2736 e 1671 cm⁻¹) que sugerem a formação do composto.

Comparando com o precursor tacnⁱPr₂ observa-se o surgimento de uma banda de absorção próximo a 1090 cm⁻¹ em ambos os compostos derivados do triazaciclonoano, tacnⁱPr₂ e tacnⁱPr₂mff, devido a presença de ligações C-N, modo vibracional ausente no cmff. A seguir, estão sumarizadas as bandas relevantes os precursores do tacnⁱPr₂ (Tabela 2), pró-ligantes e ligante final (Tabela 3):

Tabela 2 – Modos vibracionais e números de onda (cm^{-1}) dos precursores do tacn^iPr_2 :

	eg-ts ₂	deta-ts ₃	tacn-ts ₃	tacn-ts	tacn^iPr_2 -ts
v (N-H)		3292		3300	
v (C-H _{ar})	3100	3073-3020	3091-3015	3095-3027	3064-3028
v (C-H _{alif})	2994-2876	2988-2840	2985-2848	2929-2835	2962-2871
v (C=C)	1596	1605 e 1444	1599 e 1448	1606 e 1454	1598 e 1448
δ_s (C-H _{alif})		1493	1497	1482	1495
δ_{ass} (C-H _{alif})		1375	1384	1384	1384
ν_s (O-S-O)	1360	1326	1327	1333	1337
ν_{ass} (O-S-O)	1175	1158	1158	1158	1158
v (S-O-C)	1027-820	1091-832	1089-859	1087-859	1090-878
ν_s (C-N)		1073	1087	1095	1091
δ (C-H _{ar})	769	810	815	820	818

Tabela 3 – Modos vibracionais e comprimentos de onda (cm^{-1}) dos pró-ligantes e do ligante final.

	tacn^iPr_2	Hmb	cmff	$\text{tacn}^i\text{Pr}_2\text{mff}$
v (N-H)	3257			
v (O-H)		3350	3350	3428
v (C-H _{ar})		3029	3024	3054
v (C-H _{alif})	2962-2822	2990-2864	2989-2864	2958-2814
v (C-H _{ald})		2738	2738	2736
v (C=O)		1658	1658	1671
v (C=C)		1590-1484	1590-1484	1595
δ_s (C-H _{alif})	1467			1464
δ_{ass} (C-H _{alif})	1384			1379
δ (O-H)		1372	1372	1356
v (C-O _{fenol})		1282	1282	1270
ν_s (C-N)	1093			1087
δ (C-H _{ar})		742	742	716

4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio RMN ^1H e ^{13}C .

Todas as moléculas precursoras foram caracterizadas por RMN de ^1H bem como o ligante final por RMN de ^1H e ^{13}C , confirmando assim a obtenção dos produtos desejados e com pureza satisfatória. Através da análise dos espectros obtidos, pode-se comprovar o arranjo estrutural das moléculas em questão onde os deslocamentos químicos para os átomos de ^1H , são coerentes com cada grupo funcional em questão.

Para os compostos *eg-ts*₂, *deta-ts*₃, *tacn-ts*₃, *tacn-ts* e *tacn*ⁱ*Pr*₂-*ts*, a integração dos picos referentes aos prótons dos anéis aromáticos são bastante úteis e revelam a quantidade esperada de grupos protetores *p*-toluenosulfônicos, já que este fator é de extrema importância para obtenção das moléculas seletivamente derivatizadas.

O espectro do ligante final *tacn*ⁱ*Pr*₂*mff* revela que o procedimento de síntese e purificação gera o composto com elevado grau de pureza. Na Tabela 4 estão sumarizados os grupos orgânicos e os respectivos deslocamentos químicos para todos compostos sintetizados.

Tabela 4 – Atribuições dos espectros de RMN dos compostos orgânicos sintetizados.

	CH ₃	CH ₂	CH _{iPr}	CH _{ar}	NH	CH _{ald}	OH
<i>eg-ts</i> ₂	2,45 (s, 6H)	4,18 (s, 4H)		7,34 (d, 2H); 7,73 (d, 2H) 7,31 (m, 6H);			
<i>deta-ts</i> ₃	2,43 (s, 9H)	3,15 (s, 8H)		7,61 (d, 2H); 7,76 (d, 3H); 7,84 (d, 1H)	1,60 (s, 2H)		
<i>tacn-ts</i> ₃	2,44 (s, 9H)	3,42 (s, 12H)		7,33 (d, 6H); 7,70 (d, 6H)			
<i>tacn-ts</i>	2,40 (s, 3H)	2,86 (s, 4H); 3,05 (m, 4H); 3,16 (m, 4H);		7,28 (d, 2H); 7,66 (d, 2H)	1,77 (s, 2H)		
<i>tacn</i> ⁱ <i>Pr</i> ₂ - <i>ts</i>	0,93 (d, 12H); 2,41 (s, 3H)	2,45 (s, 4H); 2,85 (m, 4H); 3,29 (m, 4H).	2,77 (h, 2H).	7,28 (d, 2H); 7,67 (d, 2H)			
<i>tacn</i> ⁱ <i>Pr</i> ₂	0,98 (d, 12H)	2,46 (s, 4H); 2,56 (m, 4H); 2,66 (m, 4H)	2,84 (h, 2H);				

Hmb	2,32 (s, 3H)		6,88 (d, 1H)	9,83	10,83	
			7,32 (dd, 2H)	(s, 1H)	(s, 1H)	
cmff	2,35 (s, 3H)	4,67 (s, 2H)	7,40 (2s, 2H)	9,86	11,25	
		2,47 (s, 4H);		(s, 1H)	(s, 1H)	
tacn	0,97 (d, 12H);	2,71 (m, 4H);	2,89 (h, 2H).	7,00 (s, 1H);	10,47	8,60
ⁱ Pr ₂ mff	2,23 (s, 3H)	2,99 (s, 4H);		7,45 (s, 1H)	(s, 1H)	(s, 1H)
		3,81 (s, 2H)				

4.2 Caracterização do Complexo

O complexo $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^i\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$ teve sua estrutura cristalina determinada por difração de raios X em monocristal e foi caracterizado ainda via espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica UV-Vis e medidas eletroquímicas.

4.2.1. Espectroscopia vibracional no Infravermelho

O espectro obtido de uma amostra cristalina do complexo em KBr (Figura 23) apresentou bandas similares ao ligante livre, com alguns deslocamentos se comparado à forma complexada. As principais mudanças estão localizadas nos estiramentos C-H do anel aromático em 2997 cm^{-1} e o estiramento C=O da carbonila em 1620 cm^{-1} , ambos em menores energias do que no ligante livre.

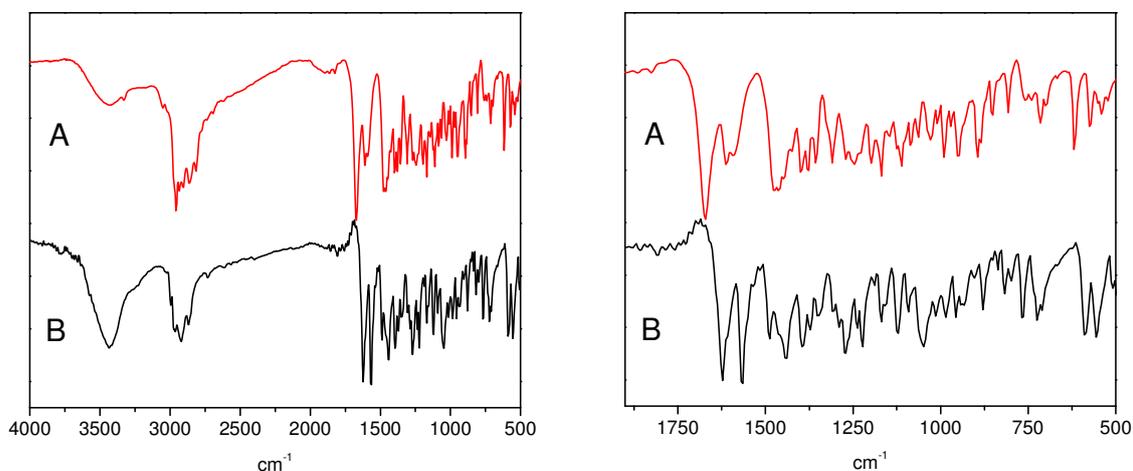


Figura 23 – Espectro na região do infravermelho (esquerda) do ligante livre (A) e complexo **1** (B). A direita expansão da região de menores frequências (1900 a 500 cm^{-1})

4.2.2 Estrutura Cristalina do Complexo $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$ – **1**

A estrutura cristalina do complexo $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$ foi obtida através da análise de monocristais pelo método de difração de raios X. Os dados cristalográficos e do refinamento da estrutura são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Dados cristalográficos selecionados e refinamento da estrutura do complexo $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$.

Formula empírica	$\text{C}_{21} \text{H}_{34} \text{Cl}_3 \text{Cu}_2 \text{N}_3 \text{O}_2$
Massa molar	593,94
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	C c
Dimensões da cela unitária	$a = 13,1157(8) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 16,0029(10) \text{ \AA}$ $\beta = 94,323(12)^\circ$ $c = 12,0041(19) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
Volume	$2512.4(5) \text{ \AA}^3$
Z	4
Densidade	$1,570 \text{ Mg/m}^3$
Dimensões do cristal	$0,50 \times 0,43 \times 0,40 \text{ mm}^3$
Reflexões coletadas	4274
Reflexões únicas	3406
Goodness-of-fit on F^2	1,103
Índices finais [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0299$, $wR_2 = 0,0751$

A estrutura de raios X do complexo foi obtida a partir de monocristais castanho-escuros e pertencentes ao sistema cristalino monoclínico. Os dados obtidos da resolução da estrutura por raios X do complexo revelam uma unidade assimétrica $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$ de carga neutra. Uma representação estrutural ORTEP é apresentada na Figura 24 e os dados cristalográficos e principais ângulos e comprimentos de ligação são listados na Tabela 6.

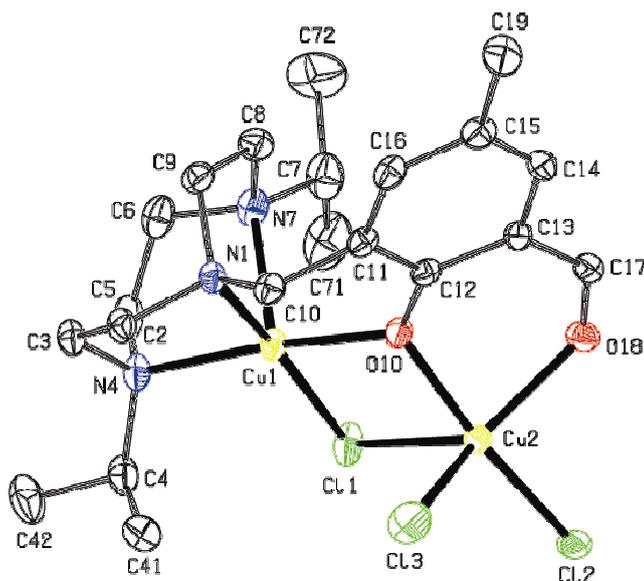


Figura 24 – Estrutura cristalina do complexo $[Cu_2(tacn^iPr_2mff)Cl_3]$ (**1**).

A estrutura do complexo **1** apresenta um arranjo binuclear onde o centro metálico Cu1 está coordenado facialmente a triamina cíclica (nitrogênios N1, N4 e N7) e pelo oxigênio O10 do fenolato. Já para o centro Cu2 o ligante ocupa apenas duas posições de coordenação (O10 do anel fenólico e O18 do oxigênio pertencente à carbonila). Os dois centros de Cu^{II} estão ligados pela ponte μ -fenolato sob um ângulo de $111,52(14)^\circ$ e, ainda, por uma ponte μ -cloreto formando um ângulo de $83,00(4)^\circ$. Completando a esfera de coordenação do Cu2 estão posicionados dois cloretos. A distância média de ligação dos centros Cu1 e Cu2 aos átomos doadores foram de 2,134 e 2,225 Å, respectivamente. A distância intermetálica entre os centros Cu1 e Cu2 encontrada foi de 3,241 Å.

A distância Cu1 e Cu2 – O10 são de 1,978(3) e 1,943(3) Å, respectivamente e comparáveis a outros complexos de Cu^{II} com ligantes fenolato coordenados de maneira desprotonada já descritos na literatura (PERALTA, 2006).

Uma vez que ambos os centros metálicos de Cu^{II} estão pentacoordenados, o cálculo do parâmetro de Addison (τ) se torna bastante útil para a determinação do arranjo geométrico dos átomos N,O-doadores entorno dos centros metálicos (ADDISON, 1984). Assim, quando $\tau = 0$ o centro pentacoordenado apresenta geometria piramidal de base quadrada perfeita e quando $\tau = 1$, o centro adquire geometria de bipirâmide trigonal perfeita. No complexo **1**, o centro Cu1 pode ser

descrito como uma pirâmide de base quadrada ($\tau = 0,054$), já para o centro Cu2 o arranjo estrutural piramidal quadrático significativamente distorcido ($\tau = 0,452$).

Tabela 6 – Distâncias e ângulos de ligação da esfera de coordenação dos centros de Cu^{II} em **1**.

Cu1-O10	1,978(3)	O10-Cu1-N1	91,56(13)	O10-Cu2-Cl2	168,10(10)
Cu1-N1	2,035(4)	O10-Cu1-N4	170,80(15)	O18-Cu2-Cl2	88,61(9)
Cu1-N4	2,071(4)	N1-Cu1-N4	85,51(15)	O10-Cu2-Cl3	91,27(10)
Cu1-Cl1	2,2844(12)	O10-Cu1-Cl1	83,37(9)	O18-Cu2-Cl3	140,98(11)
Cu1-N7	2,300(4)	N1-Cu1-Cl1	167,52(11)	Cl2-Cu2-Cl3	100,46(6)
Cu2-O10	1,943(3)	N4-Cu1-Cl1	97,72(11)	O10-Cu2-Cl1	76,13(9)
Cu2-O18	2,133(3)	O10-Cu1-N7	103,89(14)	O18-Cu2-Cl1	114,68(10)
Cu2-Cl2	2,2071(12)	N1-Cu1-N7	85,12(14)	Cl2-Cu2-Cl1	99,36(5)
Cu2-Cl3	2,2468(13)	N4-Cu1-N7	84,57(16)	Cl3-Cu2-Cl1	101,28(6)
Cu2-Cl1	2,5945(14)	Cl1-Cu1-N7	107,14(11)	Cu1-Cl1-Cu2	83,00(4)
		O10-Cu2-O18	83,46(12)	Cu2-O10-Cu1	111,52(14)

Comparando com a estrutura do complexo [Cu^{II}(bpmamff)Cl] descrita por Oliveira (2005), observa-se a troca de posição na coordenação do fenolato devido a impossibilidade de coordenação meridional das aminas do ligante tacnⁱPr₂mff. A distância da ligação O10 – Cu1 no complexo **1** é de 1,978 Å, já no complexo [Cu^{II}(bpmamff)Cl] (OLIVEIRA, 2005), esta mesma ligação está orientada axialmente à pirâmide de base quadrada com distância de 2,130 Å. Esta diferença estrutural entre o complexo **1** e o complexo citado anteriormente pode vir a ser fundamental aos futuros estudos de reatividade frente à clivagem de ligações fosfodiéster e ligações peptídicas. Oliveira (2005) ressalta a possibilidade destes tipos de ligações interagirem com o fenolato do ligante gerando espécies passíveis de clivagem direta por ataque nucleofílico, onde o fenolato atuaria diretamente numa reação de esterificação/transesterificação, ou por hidrólise de um intermediário ativado via ataque de uma molécula de água do meio no centro eletrofílico do substrato peptídico ou diéster de fosfato. Portanto, a maior proximidade do fenolato à posição lábil do centro metálico Cu1 do complexo **1** pode ser um fator positivo para a atividade catalítica deste novo composto de coordenação.

Com o intuito de obter um complexo mononuclear de Cu^{II} com o ligante tacnⁱPr₂mff, quantidades equimolares de metal e ligante foram inicialmente

utilizadas. Tal propósito não foi imediatamente alcançado devido à formação do presente composto binuclear (complexo **1**), certamente uma espécie termodinamicamente mais estável nas referidas condições experimentais.

Sendo assim, a formação da espécie binuclear pode se dar pela oferta de densidade eletrônica tanto do aldeído do ligante como do composto de coordenação formado a partir dos grupamentos macrocíclico alquilado e fenolato e um átomo de Cu^{II} . Aliado a estes fatos, a possibilidade da formação de pontes do tipo μ -cloreto promovida pelos ânions Cl^- presentes em solução também podem contribuir para a formação do arranjo estrutural encontrado. Nestas condições a aproximação de um segundo cátion bivalente de cobre ao ambiente de coordenação mononuclear resultou na formação de **1**.

4.2.3 Eletroquímica

O comportamento eletroquímico do complexo **1** foi investigado por voltametria cíclica em meio aquoso e orgânico (acetonitrila), sendo que os potenciais encontrados foram corrigidos pelos padrões internos hexacianoferrato de potássio e ferroceno, respectivamente.

Devido à pequena solubilidade de **1** em acetonitrila as ondas referentes à atividade eletroquímica do metal são de baixa intensidade, porém, observa-se no voltamograma da Figura 25 a presença de um processo irreversível ($E_{\text{pa}} = -520$ mV) relativo ao centro metálico O_2Cl_3 -coordenado e outro *quasi*-reversível em 476 mV relativo ao par redox Cl^-/Cl^0 (ZANELLO, 2003). A onda referente ao centro de Cu^{II} $\text{N}_3, \text{O}, \text{Cl}$ -coordenado não foi detectada provavelmente devido a elevada basicidade da parte macrocíclica do ligante $\text{tacn}^1\text{Pr}_2\text{mff}$ deslocando catodicamente o potencial deste centro metálico para regiões de difícil leitura.

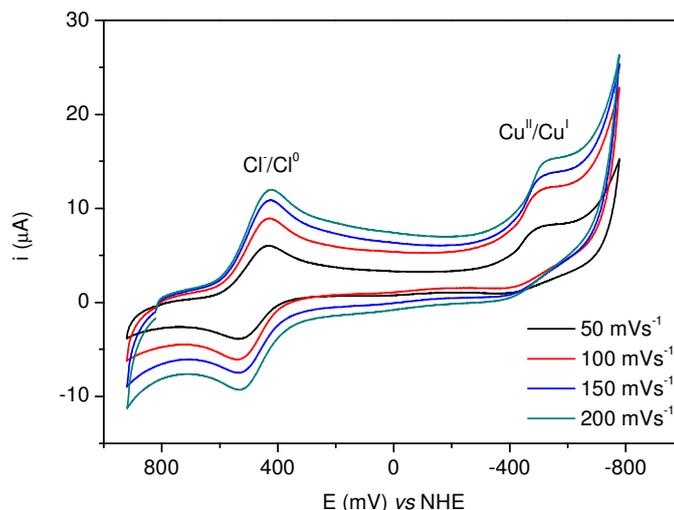


Figura 25 – Voltametria cíclica de **1** em acetonitrila. Eletrodos: carbono vítreo (trabalho), Ag/Ag⁺ (referência) e platina (auxiliar). Eletrólito suporte: TBAPF₆ 0,1 mol.L⁻¹. Padrão interno: ferroceno.

Uma vez que o complexo **1** sofre hidrólise de seus íons cloreto em meio aquoso, experimentos de VC em valores selecionados de pH também foram realizados. No voltamograma apresentado na Figura 26 observa-se que em condições ácidas (pH ~ 3) há predomínio da espécie $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ ($E_{\text{pa}} = -150 \text{ mV}$ a $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$) onde o fenol encontra-se protonado e duas moléculas de água completam a esfera de coordenação metálica. Em pH ~ 4 os voltamogramas revelam uma grande quantidade de processos de redução e oxidação referentes a espécies formadas da hidrólise de **1**. Em potencias positivos próximos a 200 mV pode ser observada a redução de cloro a cloreto e por volta de -100 mV pode ser detectado uma espécie do complexo no qual a redução Cu^{II}/Cu^I é substancialmente facilitada, possivelmente devido a presença do fenol coordenando-se na sua forma protonada. Em - 382 mV a presença de uma onda *quasi*-reversível pode ser atribuída à espécie mononuclear $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ onde o grupo fenólico se encontra desprotonado. No trecho anódico do voltamograma são observadas duas ondas possivelmente referentes à redissolução de depositos na superfície do eletrodo e também a oxidação de cloreto à cloro.

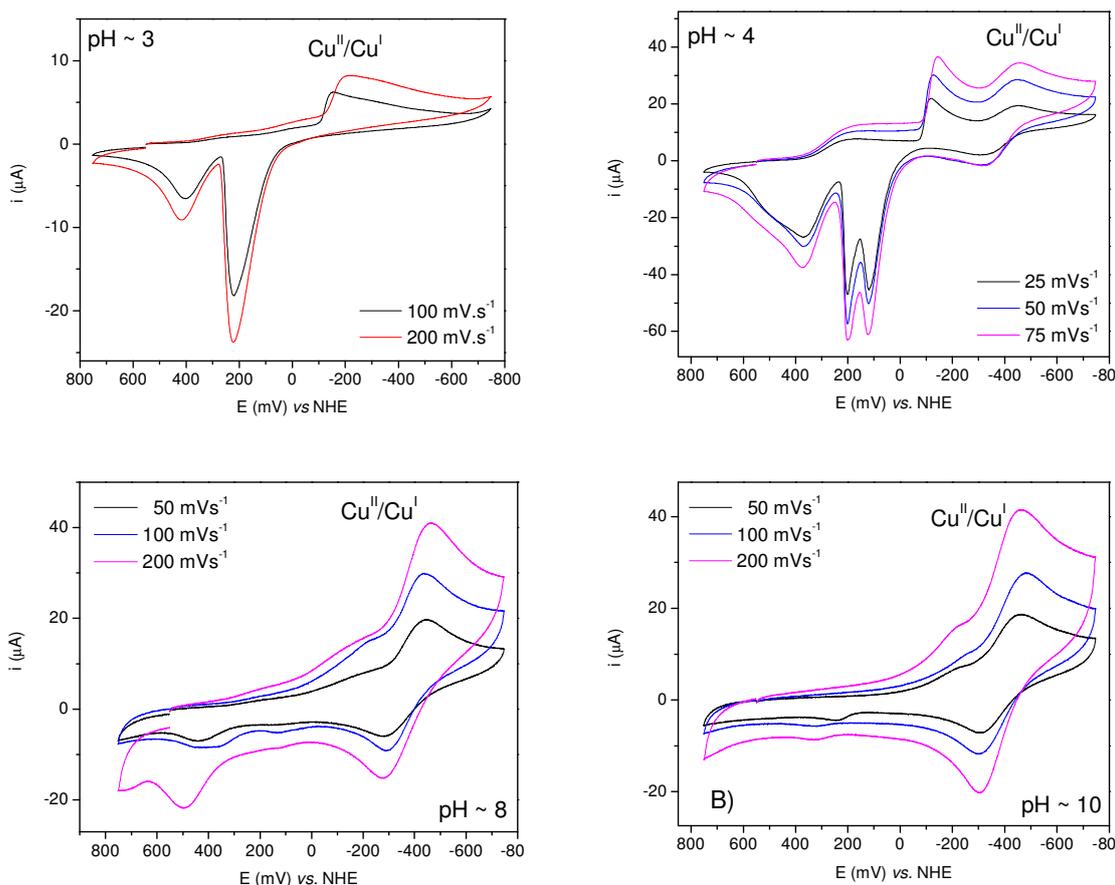


Figura 26 – Voltametria cíclica em solução aquosa e valores de pH selecionados. Condições: $[1] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Eletrodos: carbono vítreo (trabalho), Ag/Ag^+ (referência) e platina (auxiliar). Eletrólito suporte: $\text{KCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Padrão interno hexacianoferrato de potássio ($E \text{ VS ENH} = 358 \text{ mV}$).

Em pH ~ 8 os voltamogramas revelaram a formação majoritária da espécie mononuclear com o fenol ligado na sua forma desprotonada ($E_{1/2} = -362 \text{ mV}$) porém ainda são detectados resquícios da espécie protonada ligeiramente. Devido a elevada densidade eletrônica imposta ao centro metálico pelo ligante, a desprotonação da água coordenada ao centro de Cu^{II} deve ocorrer acima de pH 10. Nestas condições o voltamograma revela um perfil de processos redox semelhantes aos de pH 8 não sendo observado significativos deslocamentos nos potenciais de meia-onda.

A similaridade do comportamento eletroquímico observado entre o complexo descrito neste trabalho e os descritos por Oliveira (2005 e 2009), sugere a formação, em solução aquosa, de um novo composto de coordenação com as características químicas desejáveis para o estudos acerca de sua atividade frente a hidrólise de moléculas biológicas como DNA e proteínas.

Assim, o complexo **1** se mostra promissor no papel de uma protease e/ou nuclease sintética tal como o complexo $[\text{Cu}(\text{bpmamff})\text{H}_2\text{O}]^+$ (OLIVEIRA, 2005) e o descrito por Hegg e Burstyn (1995 e 1996) $\text{Cu}([\text{9}]ane\text{N}_3)\text{Cl}_2$.

4.2.4 Espectroscopia eletrônica UV-Vis

O estudos de espectroscopia eletrônica efetuados em solução aquosa revelaram a presença de Cu^{II} de geometria piramidal quadrática com banda em 702 nm ($\epsilon = 168 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) e um ombro (banda sobreposta à TCLM) em 477 nm, características das transições eletrônicas do tipo *d-d* do metal em questão. A Figura 27 mostra o espectro eletrônico de **1** obtido em solução aquosa.

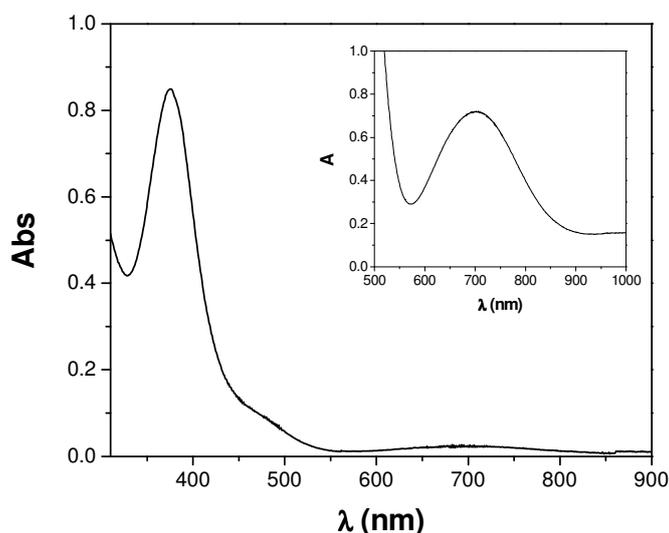


Figura 27 – Espectro eletrônico de **1** em água deionizada. Condições: $[\mathbf{1}] = 1,28 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (375 nm) e $4,28 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (702 nm), pH de dissolução.

A presença da transferência de carga do ligante para o metal (TCLM) em 375 nm ($\epsilon = 6609 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) está em concordância com os estudos eletroquímicos confirmando a formação do cátion complexo $[\text{Cu}(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})\text{H}_2\text{O}]^+$ com o grupo fenolato desprotonado.

4.3 Proposição de equilíbrio de espécies em solução

A partir dos dados estruturais, eletroquímicos e espectroscópicos coletados para o complexo **1** pode-se constatar um comportamento similar aos descritos por Oliveira (2005), um dos poucos complexos reportados até o presente momento com propriedades catalíticas promiscuas de nuclease e protease sintética. Desta forma, a interpretação destes dados sugere que **1** mantém sua integridade estrutural no estado sólido (forma cristalina) e em meio orgânico seco (CH_3CN espectroscópica), porém prontamente é hidrolisado em solução aquosa para formar espécies mononucleares distintas dependentes do pH do meio. O esquema da Figura 28 abaixo representa o processo de hidrólise de **1** e o equilíbrio químico entre as espécies em solução.

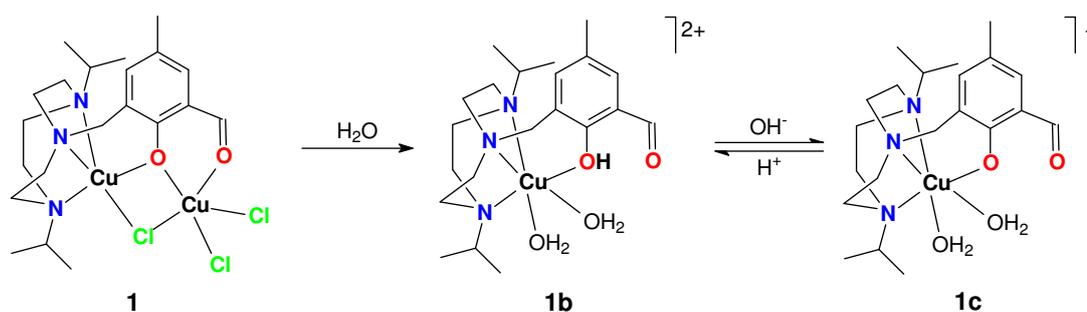


Figura 28 – Espécies no estado sólido (**1**), em meio ácido (pH 3) (**1b**) e neutro/básico (pH 8-10) (**1c**).

Segundo os estudos de Oliveira (2005), o *aquo*-complexo monovalente $[\text{Cu}(\text{bpmamff})\text{H}_2\text{O}]^+$ apresenta, dentre as espécies potenciometricamente elucidadas, a maior atividade na hidrólise de polipetídio BSA (soro de albumina bovino) e também na inibição da atividade da enzima Taq DNA polimerase. Estas considerações fazem do complexo sintetizado e estudado neste trabalho um promissor composto capaz de se manter por uma grande faixa de pH na sua forma *aquo* (**1b**), possivelmente ativa como nuclease/protease sintética.

5. Conclusões

A metodologia descrita para obtenção dos pró-ligantes $\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2$ e cmff foi adotada com sucesso e o ligante final $\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff}$, foi obtido e caracterizado (IV, RMN ^1H e ^{13}C e ponto de fusão) apresentando alto grau de pureza. Com o ligante, o complexo binuclear inédito $[\text{Cu}_2(\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff})\text{Cl}_3]$, foi sintetizado e caracterizado por difração de raios X em monocristal, métodos espectroscópicos (IV e UV-Vis) e eletroquímicos (VC).

Embora a estrutura cristalina de **1**, não apresente características relevantes (em uma primeira instância) no que diz respeito à atividade hidrolítica sobre substratos peptídicos ou nucleotídicos, a presença do macrociclo coordenado facialmente sobre o centro de Cu^{II} orientando o grupo fenólico à uma posição equatorial na esfera de coordenação deste metal, são resultados animadores para a utilização deste ligante para síntese de novos complexos com propriedades catalíticas, visto que a acidez de Lewis do centro metálico Cu^{II} esta mais próxima às encontradas em enzimas e proteases/nucleases químicas.

Os estudos em solução se mostram fundamentais para a proposta de que o complexo **1** é prontamente hidrolisado em meio aquoso, gerando assim as espécies **1b** e **1c**. Assim, o propósito do trabalho foi alcançado já que tais espécies são relevantes para as comparações com os complexos já reportados. Espera-se que a espécie **1c** reproduza a atividade hidrolítica apresentada pelos complexos anteriormente citados, sendo importante ressaltar: a maior proximidade do fenolato à posição lábil do cátion Cu^{II} , a apreciável reversibilidade do seu processo redox $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ e a estabilidade do *aquo*-complexo mononuclear em condições neutras à básicas. Estas características fazem do complexo sintetizado com o novo ligante $\text{tacn}^{\text{I}}\text{Pr}_2\text{mff}$ um promissor catalisador de reações de hidrólise de biomoléculas tais como proteínas e DNA.

6. Perspectivas

Primeiramente, titulação potenciométrica e espectrometria eletrônica em pHs ácidos à básicos serão importantes para o melhor estudo das espécies formadas e a resolução dos equilíbrios observados quando **1** é hidrolisado em solução aquosa.

Com o material da síntese de **1** pretende-se isolar as espécies mononucleares a fim de sua resolução estrutural. É desejável que as análises aqui descritas sejam também realizadas com as espécies, nas suas formas isoladas, bem como as que ainda devem ser realizadas para **1**.

Estudos bioquímicos do novo complexo sintetizado assim como de espécies não isoladas frente a ácidos nucleicos e proteínas são altamente desejados sendo que o monitoramento da atividade catalítica dos complexos frente a hidrólise destas macromoléculas é, o principal objetivo do trabalho que continuará orientando o rumo desta linha de pesquisa acerca da obtenção de novos biomiméticos sintéticos com atividade catalítica promíscua de nucleases e/ou proteases.

7. Referências Bibliográficas

ADDISON, A. W.; RAO, T. N.; REEDIJK, J.; VANRIJN, J., VERSCHOOR, G. C. Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulfur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, p. 1349-1356, **1984**.

BEINERT, H. Bioinorganic Chemistry: A new field or discipline? Words, meanings and reality. The Journal of Biological Chemistry, **2002**, v. 227, n. 41, p. 37967-37972.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. Biochemistry. 5^a ed. New York: W. H. Freeman & Co Ltd, **2002**.

BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J.: Catalytic Promiscuity in Biocatalysis: Using Old Enzymes to Form New Bonds and Follow New Pathways, Angewandte Chemie International Edition, **2004**, v. 43, p. 6032–6040.

COWAN, J. A.: Chemical Nucleases, Current Opinion in Chemical Biology. **2001**, v. 5, p. 634–642.

HEGG, E. L.; BURSTYN, J. N.: Hydrolysis of Unactivated Peptide Bonds by a Macrocyclic Copper(II)Complex: Cu([9]aneN3)Cl₂ Hydrolyzes Both Dipeptides and Proteins, Journal of American Chemical Society. **1995**, v. 117, p. 7015–7016.

HEGG, E. L.; BURSTYN, J. N.: Copper(II) Macrocycles Cleave Single-Stranded and Double-Stranded DNA under Both Aerobic and Anaerobic Conditions, Inorganic Chemistry, **1996**, v. 35, p. 7474–7481.

JÄRVINEN, P.; OIVANEN, M.; LÖNNBERG, H. Interconversion and phosphoester hydrolysis of 2',5'-dinucleoside and 3',5'-dinucleoside monophosphates – kinetics and mechanisms. Journal of Organic Chemistry, **1991**, v. 56, p. 5396, 1991.

KARSTEN, P.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.; LANZMASTER, M.; DRAGO, V., Synthesis, Structure, Properties, and Phosphatase-Like Activity of the First Heterodinuclear Fe^{III}Mn^{II} Complex with the Unsymmetric ligand H₂BPBPMP a model for the PAP in Sweet Potato, Inorganic Chemistry, **2002**, v. 41, p. 4624 – 4626.

KAZLAUSKAS, R. J.: Enhancing Catalytic Promiscuity for Biocatalysis, Current Opinion in Chemical Biology. **2005**, v. 9, p. 195–201.

KOONIN, E. V. Conserved sequence pattern in a wide variety of phosphoesterases. Protein Science, **1994**, v. 3, p. 356-358.

LEHNINGER, A. F. Princípios de Bioquímica, São Paulo: Sarvier, **1984**.

LI, K., HE, T., LI, C., FENG, X., WANG, N., YU, X.: Lipase-catalysed direct Mannich reaction in water: utilization of biocatalytic promiscuity for C–C bond formation in a “one-pot” synthesis, Green Chemistry, v. 11, p. 777, **2009**.

LIPPARD, S. J. and BERG, J. M. Principles of Bioinorganic Chemistry, Mill Valley: University Science Books, **1994**.

LIU, C.; WANG, M.; ZHANG, T.; SUN, H.: DNA Hydrolysis Promoted by di- and multi-nuclear Metal Complexes, Coordination Chemistry Reviews, **2004**, v. 248, p. 147–168.

MITIC, N.; SMITH, S. J.; NEVES, A.; GUDDAT, L. W.; GAHAN, L. R.; SCHENCK, G. The Catalytic Mechanisms of Binuclear Metallohydrolases. Chemical Reviews, **2006**, v. 106(8), p. 3338-3363.

MENCHER, S. K.; WANG, L. G.: Promiscuous drugs compared to selective drugs (promiscuity can be a virtue), BMC Clinical Pharmacology, **2005**, v. 5, p. 3.

OLIVEIRA, M. C. B., SCARPELLINI, M., NEVES, A., TEREZI, H., BORTOLUZZI, A. J., SZPOGANICS, B., GREATTI, A., MANGRICH, A. S., SOUZA, E. M., FERNANDEZ, P. M., SOARES, M. R.: Hydrolytic Protein Cleavage Mediated by Unusual Mononuclear Copper(II) Complexes: X-ray Structures and Solution Studies Inorganic Chemistry, **2005**, v. 44 (4), p. 921-929.

OLIVEIRA, M.; MAZERA, D.; SCARPELLINI, M.; SEVERINO, P. C.; NEVES, A.; TEREZI, H.: Mononuclear Cu^{II}–Phenolate Bioinspired Complex is Catalytically Promiscuous: Phosphodiester and Peptide Amide Bond Cleavage, Inorganic Chemistry, **2009**, v. 48, p. 2711-2713.

PERALTA, R. A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. D.; DOS ANJOS, A.; XAVIER, F. R.; SZPOGANICZ, B.; TEREZI, H.; OLIVEIRA, M.; CASTELLANO, E.; FRIEDERMANN, G. R.; MANGRICH, A. S.; NOVAK, M. A.: New unsymmetric dinuclear Cu^{II}Cu^{II} complexes and their relevance to copper(II) containing metalloenzymes and DNA cleavage, Journal of Inorganic Biochemistry, **2006**, v. 100, p. 992-1004.

REY, N. A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; PICH, C. T.; TEREZI, H.: Catalytic Promiscuity in Biomimetic Systems: Catecholase-like Activity, Phosphatase-like Activity, and Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a New Dicopper(II) Hydroxo-Bridged Complex, Inorganic Chemistry, **2007**, v. 46, p. 348–350.

SHELDRICK, G. M. SHELXS-97: A short history of SHELX, Acta Crystallography, v. A64, **2008**, p. 112-122.

SPEK, A. L.; Single-crystal structure validation with the program PLATON. Journal of Applied Crystallography, v. 36, **2003**, p. 7-13.

SMITH, S. J.; CASELLATO, A.; HADLER, K. S.; MITIĆ, N.; RILEY, M. J.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; SCHENCK, G.; NEVES, A.; GAHAN, L. The reaction mechanism of the Ga(III)Zn(II) derivative of uteroferrin and corresponding biomimetics. Journal of Biological Inorganic Chemistry, **2007**, v. 12, p. 1207-1220.

STRÄTER, N.; LIPSCMOB, W. N.; KLABUNDE, T. AND KREBS, B. Twometal ion catalysis in enzymatic acyl- and phosphoril-transfer reactions. Angewandte Chemie International Edition in English, **1996**, v. 35, p. 2024-2055.

THOER, A.; DENIS, M., DELMAS, M. and GASET, A. The Reimer-Tiemann reaction in slightly hydrated solid-liquid medium: a new method for the synthesis of formyl and diformyl phenols. Synthetic Communications, **1988**, v. 18, p. 2095-2101.

TOLMAN, W. B., HALFEN, J. A.: Symmetric 1,4-diisopropyl-7-R-1,4,7-Triazacyclononanes, Inorganic Synthesis, **1998**, v. 32, p. 75-82.

WILLIAMS, N. H.; TAKASAKI, B.; WALL, M.; CHIN, J. Structure and Nuclease Activity of Simple Dinuclear Metal Complexes: Quantitative Dissection of the Role of Metal Ions. Accounts on Chemical Research, **1999**, v. 32, p. 484.

WOLFENDEN, R. Degrees of Difficulty of Water-Consuming Reactions in the Absence of Enzymes. Chemical Reviews, **2006**, v. 106, p. 3379-3396.

ZANELLO, P.: Voltametric Techniques. Inorganic Electrochemistry: theory, practice and a application. British, **2003**.